



**T.C
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI**

**VE
KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**KIRIM KONGO KANAMALI ATEŞ HASTALARINDA
'AUGMENTER OF LİVER REGENERATION' MOLEKÜLÜNÜN
DÜZEYİ, BAZI İNFLAMATUAR SİTOKİNLER VE
HASTALIĞIN ŞİDDETIYLE İLİŞKİSİ**

**DR. Ömür GÜNDAĞ
UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**SİVAS
2015**



T.C.

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ENFEKSİYON HASTALIKLARI

VE

KLİNİK MİKROBİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

**KIRIM KONGO KANAMALI ATEŞ HASTALARINDA
'AUGMENTER OF LİVER REGENERATION' MOLEKÜLÜNÜN
DÜZEYİ, BAZI İNFLAMATUAR SİTOKİNLER VE
HASTALIĞIN ŞİDDETİYLE İLİŞKİSİ**

DR. Ömür GÜNDAĞ

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

PROF. DR. MEHMET BAKIR

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ

SİVAS

2015



Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu' nun 10.02.2010 tarih ve 2010/12 sayılı kararı ile kabul edilen 'Tez yazım Klavuzu' na göre hazırlanmıştır.

ONAY SAYFASI

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Üye: Prof. Dr. Mehmet BAKIR

Üye: Doç. Dr. Aynur ENGİN

Üye: Doç. Dr. Şener BARUT

Bu tez, 03.05.2013 tarih ve 93596471-773/58 sayılı Yönetim Kurulu Kararı ile belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. OKAY BULUT**Tıp Fakültesi Dekanı**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim esnasında emeği geçen Enfeksiyon Hastalıkları alanında deneyim ve bilgilerini benden esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. Mehmet BAKIR' a, değerli hocalarım Prof. Dr. Nazif ELALDI, Doç. Dr. Aynur ENGİN, Doç. Dr. M. Gökhan GÖZEL ve Yrd. Doç. Dr. Seyit Ali Büyüktuna' ya teşekkür ederim. Tezimle ilgili çalışmalarda benden yardımını esirgemeyen sayın Yrd. Doç. Dr. Ziynet ÇINAR' a teşekkür ederim. Enfeksiyon hastalıkları servis ve poliklinik çalışanlarına desteklerinden dolayı teşekkür ederim. Ayrıca ihtisas süresi boyunca hiçbir zaman sabrını ve sevgisini benden esirgemeyen aileme teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) Hastalarında ‘Augmenter of liver Regeneration’ Molekülünün Düzeyi, Bazı İnflamatuar Sitokinler ve Hastalığın Şiddetiyle İlişkisi

DR. Ömür GÜNDAĞ

Tıpta Uzmanlık Tezi

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

SİVAS-2015

Bu çalışmada KKKA hastalarında ALR (Augmenter of Liver Regeneration) ve IL-7 (İnterlökin-7) seviyeleri, viral yük seviyeleri, viral yük ile ALR ve IL-7 arasındaki ilişki, ALR ve IL-7 seviyeleri ile hastalığın şiddeti ve mortalite arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Bu çalışma Nisan 2013-Eylül 2014 tarihleri arasında yapılmış ve çalışmaya KKKA hastalığı tanısı alan 70 erişkin hasta ve 50 sağlıklı birey kontrol grubu olarak dahil edilmiştir. Hastalardan başvuru anında ve taburculuk öncesi olmak üzere iki kez serum örneği alınmıştır. Hasta serumlarındaki ALR ve IL-7 düzeyleri ELISA yöntemi ile, viral yükleri ise Real-Time PCR yöntemi ile çalışılmıştır. Hasta grubundaki bireyler, Bakır ve arkadaşlarının tanımladığı ağırlık skorlamasına göre hafif, orta ve ağır olarak gruplandırılmıştır.

Hasta grubundaki ALR düzeylerinin, kontrol grubundaki bireylerin ALR düzeylerine göre daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Ayrıca, hastaların ilk başvuru anındaki ALR düzeyleri, konvelesan dönemde çalışılan ALR düzeyleriyle kıyaslandığında, hasta grubunda anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Hastaların ciddiyet düzeyi ile ALR düzeyleri kıyaslandığında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Çalışmamızda hasta ve kontrol grubundaki bireylerin IL-7 düzeyleri ve hastaların ilk başvuru ve konvelesan dönemlerindeki IL-7 düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Ayrıca, farklı ciddiyet düzeyine sahip hastaların IL-7 düzeyleri kıyaslandığında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Çalışmamızda yaşayan ve ölen bireylerin viral yükleri kıyaslandığında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Yaşayan ve ölen bireylerin IL-7 ve ALR düzeyleri kıyaslandığında ise anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Sonuç olarak, KKKA hastalarında hepatosit hasarına bağlı olarak ALR düzeylerinin yükseldiğini fakat IL-7' nin patogeneze önemli bir yerinin olmadığını söyleyebiliriz. Ancak, bu konuda daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Kırım Kongo Kanamalı Ateş, ALR, IL-7, viral yük

ABSTRACT

Augmenter of Liver Regeneration Molecule Levels in Patients with Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF), the relationship between These Levels and Some of the Inflammatory Cytokines and the Severity of the Disease.

In this present study, ALR and IL-7 levels, viral load levels, the relationship between viral load and ALR and IL-7, and the relationship between 'ALR and IL-7 levels' and 'the severity of the disease and mortality' in CCHF patients were investigated.

This present study conducted between April 2013 and September 2014 comprised 70 adult patients with a diagnosis of CCHF and 50 healthy individuals as a control group. Serum samples were taken from the participants twice: on admission and before discharge. ALR and IL-7 levels in patient serums were assessed with the ELISA method. Viral loads were assessed with the Real-Time PCR method. Individuals in the patient group were classified as low, intermediate and high according to weight scoring prepared by Bakır et al.

ALR levels in the patient group was found to be higher than the level of the individuals in the control group ALR ($p < 0.05$). Additionally, when the ALR levels determined on admission were compared with those determined during the period of convalescence, those of the participants in the patient group were found to be significantly higher ($p < 0.05$). The comparison between ALR levels and the patients' illness severity levels revealed no significant difference ($p > 0.05$). When the IL-7 levels of the participants both in the patient group and in the control group assessed on admission and during the period of convalescence, no statistically significant difference was observed in either group ($p > 0.05$). In addition, the comparison between IL-7 levels and the patients' illness severity levels revealed no significant difference ($p > 0.05$). In the present study, comparison of the viral loads of survivors and nonsurvivors revealed a significant difference ($p < 0.05$). However, when the IL-7 and ALR levels of survivors and nonsurvivors were compared, no significant difference was detected ($p > 0.05$).

In conclusion, it can be said that ALR levels in CCHF patients increase due to the hepatocyte damage, but that IL-7 levels do not play an important role in the pathogenesis. However, further studies are needed to clarify the results.

Key Words: Crimean Congo Hemorrhagic Fever, ALR, IL-7, viral load.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
TABLolar.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Epidemiyoloji.....	2
2.2. Tarihçe.....	3
2.3. Etken.....	4
2.4. Bulaş.....	4
2.5. Klinik Özellikleri.....	5
2.6. Patogenez.....	6
2.7. Laboratuvar Bulguları.....	9
2.8. Tanı.....	10
2.9. Ayırıcı Tanı.....	11
2.10. Tedavi.....	11
2.10.1. Destek Tedavisi.....	11
2.10.2. Antiviral Tedavi.....	12
2.10.3. Diğer Tedavi Seçenekleri.....	12
2.11. Korunma ve Kontrol.....	13
3. SİTOKİNLER.....	14
3.1. İnterlökin-7.....	18
3.2. İnterlökin-7' nin Biyolojik Fonksiyonları.....	19
4. ALR.....	20
4.1. ALR' nin Lokalizasyonu.....	21
4.2. ALR' nin Fonksiyonları.....	21
4.2.1. Hepatositlerin canlılığını sürdürmesi ve rejenerasyonu.....	21

4.2.2. ALR ile ERV1fonksiyonel olarak değişebilir/ birbirinin yerine geçebilir mi?.....	22
4.3. ALR' nin Ekstasellüler Etkileri.....	22
4.3.1. Hepatositler Üzerindeki Etkileri.....	22
4.3.2. Kupffer Hücreleri ve Doğal Öldürücü Hücreler Üzerindeki Etkileri.....	23
5. KKKA ve ALR	25
6. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
6.1. Serum Örneklerinin Elde Edilmesi.....	28
6.2. PCR Yöntemiyle Viral Yük Tespiti.....	29
6.2.1. Serumdan RNA İzolasyonu.....	29
6.2.2. Real Time PCR Reaksiyonu.....	30
6.2.2.1. Çalışma Prensipleri.....	30
6.2.2.2. Çalışma Protokolü.....	30
6.2.2.3. PCR' ın Hazırlanması.....	32
6.2.2.4. Veri Analizi.....	32
6.3. ELISA Yöntemiyle ALR Tespiti.....	32
6.3.1. Çalışma Yöntemi.....	33
6.4. ELISA Yöntemiyle IL-7 Tespiti.....	33
6.4.1. Çalışma Yöntemi.....	33
6.5. İstatistiksel Analiz.....	34
7. BULGULAR.....	35
8. TARTIŞMA.....	42
9. SONUÇ,ÖNERİLER.....	54
10. KAYNAKLAR.....	56

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALR: Augmenter of liver regeneration

ALR-AS: ALR-mRNA antisens oligonükleotidi

ALT: Alanine aminotransferase

aPTT: activated Partial thromboplastin time

AST: Aspartate aminotransferase

ARDS: Erişkin tipi solunum yetmezliği sendromu

ATP: Adenozin trifosfat

BSL: Biyogüvenlik düzeyi

CCHF: Crimean-Congo hemorrhagic fever

CCHFV: Crimean-Congo hemorrhagic fever virus

CPK: Creatine phosphokinase

DC: Dentritik hücre

ĐİC: Dissemine intravasküler koagülopati

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

ds RNA: Çift Zincirli RNA

EGF: Epitelyal growth faktör

ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay

ER: Endoplazmik Retikulum

ERV1: Essential for respiration and viability 1

ERV2: Essential for respiration and viability 2

FDA: Food and Drug Administration (ABD)

G-CSF: Granülosit koloni stimülan faktör

GFAP: Glial fibriller asidik protein

GGT: Gama glutamiltransferaz

HCV: Hepatit C virüs

HepG2: İnsan hepatosit tümör hücre hattı

HGF: Hepatosit growth faktör

HIV: İnsan immun yetmezlik virüsü

H₂O₂: Hidrojen peroksit

IFA: İndirek floresan Antikor

IFN-1: İnterferon tip 1

IFN- γ : İnterferon gama
IGF-1: İnsülin benzeri growth faktör-1
IgA: İmmunglobulin A
IgG: İmmunglobulin G
IgM: İmmunglobulin M
IgE: İmmunglobulin E
INR: international normalized ratio
IL-1: İnterlökin-1
IL-2: İnterlökin-2
IL-3: İnterlökin-3
IL-4: İnterlökin-4
IL-6: İnterlökin-6
IL-7: İnterlökin-7
IL-8: İnterlökin-8
IL-9: İnterlökin-9
IL-10: İnterlökin-10
IL-11: İnterlökin-11
IL-12: İnterlökin-12
ITP: İmmun Trombositopenik Purpura
iNOS: indüklenebilir nitrik oksit sentaz
kDa: Kilo dalton
KKKA: Kırım-Kongo kanamalı ateşi
LDH: Lactate dehydrogenase
LPS: Lipopolisakkarid
MCP 1: Metallo protein 1
M-CSF: Monosit-makrofaj koloni stimüle eden faktör
mRNA: Messenger Ribonükleik asit
NK: Doğal Öldürücü Hücre
NO: Nitrik oksit
NP: Nucleocapsid proteini
NÜS: Normal üst sınır
PAI: Plazminojen Aktivatör İnhibitör

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu
PTZ: Protrombin zamanı
RNA: Ribonükleik asit
rhALR: Rekombinant human ALR
rrALR: Rekombinant rat ALR
RT-PCR: Reverse transcriptase-polymerase chain reaction
SCF: Stem cell faktör
SD: Standard sapma
SIRS: Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromu
STAT-1: Transkripsiyon 1 sinyalizasyonu aktivatörü
SPSS: Statistical Package for the Social Sciences
TDP: Taze donmuş plazma
TGF: Transforming Growth faktör
Th1: T helper 1 hücresi
Th2: T helper 2 hücresi
TLR: Toll-like reseptör
TNF- α : Tümör nekroze faktör- α
VKA: Viral kanamalı Ateş
YDP: Yaygın Damar içi Pıhtılaşma

TABLOLAR

Tablo-1.1: Şiddet skorum parametreleri.....	10
Tablo 7.1: Çalışmaya alınan hastaların ilk başvuru anında alınan serum örneklerinde ve kontrol grubundaki bireylerin serum örneklerinde bakılan ALR ve IL-7 düzeylerinin karşılaştırılması.....	36
Tablo 7.2: Yaşayan ve ölen hastaların ALR ve IL-7 serum düzeylerinin kıyaslanması.....	36
Tablo 7.3: Hastaların ciddiyet skorları ile ilk başvuru anındaki ALR ve IL-7 düzeylerinin kıyaslanması.....	36
Tablo 7.4: İyileşme dönemindeki hastaların serum örneklerinde ALR ve IL-7 düzeylerinin hastaların aldıkları ciddiyet skoruna göre karşılaştırılması.....	37
Tablo 7.5: Hastaların ilk başvuru anındaki laboratuvar parametreleri ile ALR ve IL-7 düzeyleri arasındaki korelasyonun değerlendirilmesi	38
Tablo 7.6: Hastaların iyileşme dönemindeki laboratuvar parametreleri ile ALR ve IL-7 düzeyleri arasındaki korelasyonun değerlendirilmesi.....	38
Tablo 7.7: Yaş ve cinsiyetle ALR ve IL-7 düzeylerinin kıyaslanması.....	39
Tablo 7.8: Mortaliteyle viral yük değerlerinin kıyaslanması.....	40
Tablo 7.9: KKKA hastalarında ilk başvuru anında ve konvelesan dönemde bakılan serum ALR düzeylerinin kıyaslanması.....	40
Tablo 7.10: KKKA hastalarında ilk başvuru anında ve konvelesan dönemde alınan serum örneklerinde IL-7 düzeylerinin kıyaslanması.....	40

1. GİRİŞ

Kırım Kongo Kanamalı Ateş (KKKA) hastalığı bölgemizde yüksek görülme sıklığı ve ölüm oranı nedeniyle gündemdeki yerini korumaktadır. KKKA hastalığı, viral kanamalı ateş (VKA) sendromları arasında yer alan; ateş, kanama ve karaciğer fonksiyon bozukluğu ile seyreden bir hastalıktır (1). Lökopeni, trombositopeni ve karaciğer enzim yüksekliği en sık gözlenen laboratuvar bulgularıdır. Etken *Bunyaviridae* ailesinin *Nairovirüs* grubuna dahil bir RNA (ribonükleik asit) virüsüdür (2). *Hyalomma* cinsi keneler ana vektörüdür. KKKA hastalığının patogenezindeki mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Kırım Kongo Kanamalı Ateş Virüsü (CCHFV) esas olarak hepatositler, endotel hücreleri ve monositlerde çoğalmaktadır. Hastalığın henüz özgün bir tedavisi yoktur. Ribavirinin virüs replikasyonunu durdurduğu ancak viremiyi engelleyemediği gözlenmiştir (3,4).

Augmenter of liver Regeneration (ALR) son yıllarda gündeme gelen bir moleküldür. ‘Karaciğer koruyucu molekül, hepatopoetin’ gibi adlarla anılmaktadır. Karaciğer hasarında düzeyi artmakta ve karaciğer iyileşmesinde rol oynamaktadır. Karaciğer hasarı yapan bazı hastalıklarda düzeyi çalışılmış, iyileşme dönemlerinde yüksek bulunmuştur (5). Kırım Kongo Kanamalı Ateş Hastalığı Virüsü hepatosit hasarı yaparak karaciğer fonksiyon bozukluğu oluşturmaktadır (6). Bu çalışmada KKKA hastalığında karaciğer hasarı olması nedeniyle ALR molekülünün düzeyini, hastalık şiddeti ve viral yük ile ilişkisini araştırdık.

Sitokinler immun yanıt, inflamasyon ve konağın zararlı etkenlere karşı savunulmasında rol oynayan moleküllerdir. İmmun cevabı şiddetlendirme ya da baskılama şeklinde düzenlerler. Yüksek konsantrasyonlarda toksik hatta ölümcül etkileri olabilir (7). İnterlökin-7 (IL-7) son yıllarda önemi anlaşılan bir sitokindir. Tip I sitokin olan bu molekülün immunsupresif etkileri olduğu saptanmıştır (8). KKKA hastalığının patogenezinde sitokinlerin önemli rol oynaması nedeniyle biz de çalışmamızda IL-7 düzeyi ile hastalığın şiddeti ve viral yük arasındaki ilişkiyi araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

KKKA, VKA olarak tanımlanan bir grup hastalık içerisinde yer alan ateş, kanama ve karaciğer fonksiyon bozukluğu ile karakterize akut bir infeksiyon hastalığıdır. Afrika, Asya, Doğu Avrupa ve Orta Doğu dahil olmak üzere birçok ülkede yaygın olarak bulunan zoonotik bir infeksiyon hastalığıdır (9). CCHFV, *Bunyaviridae* ailesinin *Nairovirus* grubunda yer almaktadır (2). Hastalığın yayılımı *Hyalomma* cinsi kenelerle olmaktadır (10,11). Ayrıca hastane personeli ve laboratuvar çalışanlarına bulaşabilmesi, ağır vakaların mortal seyretmesi, henüz etkin bir tedavisinin olmayışı gibi faktörler hastalığın ciddiyetini ortaya koymaktadır.

Ülkemizde ilk kez 2003 yılında hastalığın varlığı kanıtlanmıştır (12). Sağlık Bakanlığı verilerine göre ülkemizde 2002 ile 2014 yılları arasında 9062 olgu saptanmış, 420 olgu ölüm ile sonuçlanmıştır. 2002 ile 2014 yılları arasında Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi'nde ise 1458 olgu tanı almış ve 107 kadarı ölümle sonuçlanmıştır (12).

KKKA hastalığının henüz özgül bir antiviral tedavisi bulunamamıştır. Ribavirinin virüs replikasyonunu ve organ patolojilerini engellediği fakat viremiyi kontrol altına alamadığı gösterilmiştir (3, 4).

KKKA bazı ağır seyreden vakalarda ölümcül seyredebilen bir hastalıktır. KKKA infeksiyonunun klinik seyri ve sonuçları infekte olan bireyler arasında farklılık gösterebilmektedir. Bazı hastalarda tablonun ağır seyretmesine karşın, diğer bazı hastalarda ise sadece hafif bir infeksiyon şeklinde seyretmesinin nedeni tam olarak saptanamamıştır. Konak genomu içindeki Toll-like Reseptör(TLR)' lerde meydana gelen mutasyonların bu durumun bir nedeni olabileceği düşünülmektedir. TLR' indeki mutasyonların KKKA hastalığının ağır seyretmesine katkıda bulunması muhtemeldir (13).

2.1. Epidemiyoloji

KKKA günümüzde Afrika, Asya, Orta Doğu ve Doğu Avrupa'da yaygın olarak görülen zoonotik bir infeksiyon hastalığıdır. Hastalığın bugüne kadar eski Sovyetler Birliği, Bulgaristan, Pakistan, Irak, Dubai, Kuveyt, Birleşik Arap Emirlikleri, Büyük Sahra' nın güneyindeki Afrika ülkeleri ve Kuzey Batı Çin' de epidemiler yaptığı bildirilmiştir (14).

Türkiye’ de ilk olarak 2002 yılında Tokat, Sivas, Çorum, Amasya, Yozgat, Gümüşhane, Bayburt, Erzurum, Erzincan ve çevresini kapsayan geniş bir coğrafyada saptanmıştır. Hastalığın ülkemizin İç ve Doğu Anadolu Bölgeleri’ nin kuzeyinden Karadeniz Bölgesi’ nin güney kesimlerine kadar geniş bir alanda yerleştiği görülmüştür. Kene teması olan kişilerde görülen, ateş ve kanama ile seyreden bu salgın hastalığın 2003 yılında KKKA olduğu anlaşılmıştır. Daha sonra Kastamonu, Bartın, Ankara, Çankırı, Bolu, Balıkesir gibi bölgelerde de olguların ortaya çıkmasıyla hastalığın görüldüğü alan daha da genişlemiştir (15).

Hastalık mevsimsel özellik göstermektedir. Eski Sovyetler Birliği’ nde Haziran ve Temmuz aylarında hasta sayısı en yüksek seviyeye ulaşmaktadır. Güney Afrika Cumhuriyeti’ nde hastaların çoğu ilkbahar ve sonbaharda ortaya çıkmaktadır. Genel olarak hastalığın Haziran-Eylül ayları arasında ortaya çıktığı bildirilmektedir. Ancak bu durum bölgeye göre değişebilmekte ve Ocak ayında da olgular görülebilmektedir (16, 17). Bu durumun nedeni olarak; ılık geçen kış ayları nedeniyle tarımsal aktivitenin azalması ve sonucunda kene popülasyonunun artması ve keneler tarafından infekte edilen göçmen kuş ve memelilerin bölgesel hareketliliğinin artması ile virüsün yayıldığı şeklinde bir görüş ileri sürülmektedir (18, 19). Genel olarak KKKA hastalığı Haziran ve Eylül ayları arasında ortaya çıkmaktadır (20).

Bakır ve ark.’ nin yapmış olduğu bir araştırmada olguların İç ve Doğu Anadolu’ yu içine alan birbirine komşu 11 ilin kırsal alanında ortaya çıktığı görülmüştür. Olguların Nisan ve Eylül ayları arasında görüldüğü ve %80’ inin Sivas, Tokat ve Yozgat illerinin kırsal kesimlerinden çıktığı bildirilmiştir. Olguların %60’ ında kene teması öyküsü saptanmış ve olguların %90’ ının çiftçi olduğu bildirilmiştir (21).

2.2. Tarihçe

KKKA ilk kez 12. yüzyılda Tacikistan’ da yaşamış bir hekim olan İsmail el Curcani tarafından tanımlanmıştır. Hastalıkla ilgili ilk resmi kayıtlar II. Dünya Savaşı yıllarında 1944-1945 yılı yaz aylarında meydana gelen salgına aittir. Batı Kırım kesimlerinde görülen ilk salgında tarımla uğraşanlara yardım eden 200’ den fazla Sovyet askeri personeli ölmüştür. O dönemde hastalığın kene ile ilişkisi belirlenmiş ve hastalığa Kırım Kanamalı Ateşi adı verilmiştir. Daha sonra etken virüs

akut hastalardan ve *Hyalomma marginatum marginatum* cinsi yetişkin kene ve larva formlarından izole edilmiştir (14, 15).

Kongo virüsü ise 1956 yılında Zaire' de ateşli bir hastadan saptanmıştır. On bir yıl sonra, 1967 yılında Simpson ve arkadaşları 5' i laboratuvar kaynaklı olmak üzere; 12 hastadan virüsü izole etmişlerdir. Aynı araştırmacılar 1956 yılında izole edilen virüsle bu virüsün aynı virüs olduğunu bildirmişlerdir. 1969 yılında da Kongo virüsü ile Kırım Kanamalı Ateşi virüsünün biyolojik olarak benzer olduklarının gösterilmesi üzerine hastalık KKKA, virüs de Kırım Kongo Kanamalı Ateş Virüsü olarak adlandırılmıştır (14, 15).

2.3. Etken

CCHFV, *Bunyaviridae* ailesinin *Nairovirus* grubuna dahil bir RNA virüsüdür. Virüs, insanlarda diğer VKA' lerde olduğu gibi yaygın ekimoz, çeşitli organlarda kanama ve karaciğer fonksiyonlarında bozulma ile karakterize akut bir infeksiyon hastalığı oluşturmaktadır (22). VKA etkenlerinin hepsi de tek zincirli RNA içeren, lipit zarflı ve değişik morfolojik görünümlere sahip viruslardır. VKA virüslerinin büyük bir kısmı zoonoz olup, vektörler aracılığıyla insanlara bulaşmaktadır. Bu virüslerden *Lassa*, *Ebola*, *Marburg* ve CCHFV kişiden kişiye bulaşabilmektedir (23). Etken virüs *Hyalomma* cinsi kenelerle bulaşmaktadır.

Filogenetik analiz çalışmaları ile CCHFV' nün değişik coğrafi bölgelerde görülen sekiz farklı genotipi tanımlanmıştır. Türkiye' deki suş ile Kosova ve Güney Batı Rusya' daki suşun benzer filogenetik yapıda olduğu gösterilmiştir (24, 15).

CCHFV; dezenfektanlara ve çevre şartlarına dayanıksız olması nedeniyle konak dışında yaşayamamaktadır. Kuru havada 56°C' de 30 dakikada, sodyum hipoklorit ve %2' lik gluteraldehit gibi dezenfektanlarla ve mor ötesi ışınlarla kolayca inaktive olmaktadır. Kanda 40 °C' de 10 gün yaşayabilmektedir. Hücre kültüründe üreyebilme özelliğine sahiptir (25).

2.4. Bulaş

Hastalık, insanlara kenelerin kan emmesi ya da kenelerin elle ezilmesi esnasında bulaşabilmektedir. Viremik hayvanların vücut sıvıları ve dokuları ile ve hastaların vücut sıvıları ile temasla da bulaş olabilmektedir. Epidemiyolojik olarak bulaşmada en önemli yol infekte kenelerin kan emmesi sırasında virüsü vermesidir (15, 26, 27).

Keneler hastalığın esas taşıyıcısı ve rezervuarı olarak kabul edilmektedirler. Kirpi, domuz, fare, tavşan gibi vertebrali yabancı hayvanlar ve kanatlılar tanımlanmış diğer rezervuarlardır (15, 27). Virüs kenelerde ömür boyu kalmakta ve çoğalabilmektedir. Evcil ve yabancı hayvanlarda ise ancak 7-10 gün kadar barınabilmektedir (28, 29, 30).

Virüs birçok evcil ve yabancı hayvanı enfekte edebilmektedir ve bu hayvanlarda hafif seyirli bir infeksiyon oluşturmaktadır. Kuşların birçoğu virüse karşı dirençli olmalarına karşın; virüsün yayılmasında önemli rol oynarlar. KKKA hastalığının bulaşmasında *Hyalomma* cinsi kenelerin daha önemli bir yeri olmasına karşın, yaklaşık 34 kene türü bu hastalığı bulaştırabilmektedir (18). KKKA hastalığının en etkin biyolojik vektörü *Hyalomma marginatum marginatum* olarak saptanmıştır (28, 30, 31).

Veterinerler, mezbaha işçileri, tarım ve hayvancılıkla uğraşanlar ve endemik bölgelerdeki hastanelerde görev yapan sağlık çalışanları risk grubunda yer almaktadırlar. Özellikle ağız, burun, dişeti, vajina ve enjeksiyon yerinde kanaması olan hastaların kanıyla korunmasız temas sonucunda infeksiyon riski %8,7 iken; iğne batmasında risk %33 oranındadır. En yüksek bulaştırıcılığa perkütan yaralanma neden olmaktadır. Anneden çocuğa geçiş ve laboratuvar çalışanlarının viral materyal ile korunmasız teması sonucu bulaş da bildirilmiştir (30).

2.5. Klinik Özellikleri

CCHFV, sadece insanda hastalık oluşturmaktadır. Virüsün oluşturduğu hastalığın hafif, orta ve ağır olmak üzere üç klinik formu mevcuttur. Hastalık; inkubasyon dönemi, prehemorajik dönem, hemorajik dönem ve konvalesan dönem olmak üzere dört fazdan oluşmaktadır. Hastalığın inkubasyon dönemi genellikle 1-3 gün, en fazla 9 gündür (30, 32, 33). Ancak bu virüsün alınma yoluna ve alınan viral yüke göre değişkenlik göstermektedir. Ergönül ve ark. (2)' nin yapmış oldukları bir çalışmada, ülkemizde görülen vakalar için ortalama inkubasyon dönemi 5,5 gün olarak saptanmıştır. Kene ısırığı sonrası veya enfekte hayvanlardan insana bulaşta hastalığın inkubasyon süresi 2-5 gün iken; nozokomiyal infeksiyonlarda inkubasyon süresi ortalama 4-9 gün olarak bildirilmektedir. Minimum 2 günlük inkubasyon süresi bildirilen vakalar da vardır (34).

İnkubasyon döneminden sonra hastalık ani başlayan üşüme titreme, ateş, baş ağrısı, kas ve sırt ağrısı ve eklem ağrıları ile ortaya çıkmaktadır. Ardından bulantı, kusma ve karın ağrısı eklenmektedir. Ekstremitelerde dayanılamayacak kadar şiddetli ağrılar olabilir. Bazı vakalarda diyare görülebilir. Konjunktiva tutulumu, yüzde ve boyun bölgesinde dikkati çeken kızarıklıklar sıklıkla gözlenmektedir. Peteşiyal döküntüler görülebilmektedir. Tüm vakaların yaklaşık %75' inde tipik kanama bulguları ortaya çıkmakta; burun, diş eti, gastrointestinal sistem, akciğer ve genitoüriner sistem kanamaları görülebilmektedir. Kanamalar genelde hastalığın 3-7. günleri arasında ortaya çıkmaktadır. Tipik olarak kan alınan damar etrafında yaygın ekimozlar oluşmaktadır. Bazı vakalarda çok yaygın purpurik döküntüler görülebilmektedir. Bazı olgularda hepatomegali veya splenomegali görülebilmektedir. Başlangıçta boyun ağrısı, huzursuzluğu olan vakaların %10-25' inde ajitasyon veya depresyon, koma gibi giderek ciddileşen santral sinir sistemi bulguları gelişebilmektedir. Bu gibi vakalarda prognoz kötüdür. Santral tutulum genelde ensefalopati şeklindedir. Santral tutulum olan vakalarda ölüm oranları %30-50' lere kadar çıkabilmektedir (34, 33).

En sık ölüm organ yetmezlikleri (kardiyak, serebral, karaciğer, böbrek, pulmoner), intrakranial kanama ve diğer iç organlardaki ciddi kanamalar nedeniyle olmaktadır. Ölüm genelde hastalığın 4-14' üncü günleri arasında ortaya çıkmaktadır. Olguların neye göre hafif ya da ağır seyrettiği kesin olarak bilinmemekle birlikte; genetik farklılıklar, viral yük, virüsün alınış yolu ve altta yatan hastalıklar gibi etkenlerin neden olabileceği ileri sürülmektedir (34, 35).

2.6. Patogenez

KKKA hastalığının patogenezini moleküler düzeyde karmaşık olup, yapılan çok sayıdaki araştırmalara rağmen tam olarak aydınlatılamamıştır (7). Viremi kontrol edilemediği takdirde ölümle sonuçlanan olgular bulunmaktadır. Virüsün replikasyonu ile immün sistem ve vasküler dokunun zarar görmesi sonucu hasar meydana gelmektedir (37). VKA' larda bağışıklık sistemi hastalığın iyileşmesinde önemli rol oynamaktadır. Özellikle ağır olgularda bozulmuş bağışık yanıt söz konusudur (38). Diğer bir VKA etkeni olan Ebola virüslerinin oluşturduğu hastalığın ikinci haftasında virüse özgül antikor yanıtı oluşmamış ise hastalık ölümle

sonuçlanmaktadır (39, 40). KKKA nedeniyle ölen hastalarda da yapılan çalışmalarda antikor yanıtının yetersiz olduğu bildirilmektedir (41, 42).

KKKA virüsü birçok hücre tipini infekte edebilme yeteneğine sahiptir. Ölen vakalardan ve deneysel olarak infekte edilmiş primatlardan alınan dokuların immünohistokimyasal ve insitu hibridizasyon analizleri sonucunda; dendritik hücre, monosit ve makrofaj, endotel, hepatosit ve adrenal korteks hücrelerinde virüsün replike olduğu gösterilmiştir (38, 43).

KKKA hastalığında virüsün esas hedefini endotel hücreleri, monosit ve hepatositler oluşturmaktadır (44). Etkenin kapiller damarlarda yapmış olduğu fonksiyon bozukluklarının hastalığın klinik ve patolojik değişikliklerini şekillendirdiği düşünülmektedir. Virüsün diğer bir hedefi olan monositlerden salınan sitokin ve kemokinler de endoteli hedef alarak hasara neden olmaktadır. Ayrıca endotelde meydana gelen inflamasyon sonucu da direk hasar oluşmaktadır (45, 43). Kapiller permeabilitedeki artış ve pıhtılaşma fonksiyon bozuklukları sonucunda kanamaya eğilim oluşmaktadır (46).

Hasarlanan endotel trombositlerin agregasyonuna ve degranülasyonuna neden olmaktadır. Böylece aktive olan intrinsik koagülasyon kaskadı hemostatik yetmezliğe katkıda bulunmaktadır. Görüldüğü gibi patogeneizde sitokinler önemli bir yere sahiptir, bu nedenle daha geniş bilgi ileride sitokinler başlığı altında verilecektir.

Trombositopeni diğer viral infeksiyonlarda olduğu gibi KKKA hastalığında da sıklıkla görülmektedir. Genel olarak bütün KKKA hastalarında özellikle de ölen vakalarda hastalığın erken dönemlerinde ileri derecede trombositopeni saptanmaktadır (10). Trombositlerin üretiminde azalma ya da yıkımında artış sonucunda trombositopeni gelişebilir. KKKA' lı olgularda yapılan kemik iliği incelemelerinde hematopoetik öncül hücrelerin fagositozu (hemofagositoz) ve kemik iliği hipoplazisi gözlenmiştir (47, 38). Karti ve ark (47)' nin yapmış oldukları bir çalışmada KKKA tanısı alan olgulara yapılan kemik iliği incelemelerinde vakaların %50' sinde hemofagositoz olduğu saptanmış ve bu durumun hastalardaki sitopeniyi açıklayabileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca gelişen endotel hasarı da trombositopeninin bir nedeni olabilmektedir (46).

KKKA hastalarında gözlenen plazma koagülasyon faktörlerinin düşüklüğü ise artmış tüketim ya da sentezin bozulması ile açıklanmaktadır. Koagülasyon

faktörlerinin artmış tüketimi yaygın damar içi pıhtılaşma (YDP) sonucunda meydana gelmekte ve KKKA hastalarında erken dönemde gelişmektedir (48). Kanda kompleman sisteminin aktivasyonu ile oluşan immünkompleksler kapiller yatağın hasarına neden olmaktadır. Kapiller yatakta gelişen hasar da renal ve pulmoner sistem yetmezliklerine neden olabilmektedir (49, 46). İmmünkomplekslerin komplemanın C3a ve C5a fragmanlarını aktive etmesi ile vasküler hasar oluşmaktadır. C5a monositlerden IL-1 (interlökin1), IL-6 (interlökin 6), IL-8 (interlökin 8) ve TNF- α (tümör nekroz faktör- α) salgılanmasına yol açmaktadır. IL-1 ve TNF- α , endotelden plazminojen aktivatör-inhibitör (PAI) ve doku faktörünü serbestleştirmektedirler. PAI endotel hücrelerinde fibrinolizisi baskımlarken doku faktörü ise ekstrinsik pıhtılaşma yolağını başlatmaktadır. Bu olayların sonucunda vasküler hasar ve permeabilite artışı ile damar içi pıhtılaşma şiddeti artmaktadır (38).

KKKA virüsünün diğer bir hedefi hepatositlerdir. Karaciğer birçok koagülasyon faktörünün sentez yeri olması nedeniyle karaciğer disfonksiyonu gelişmesi ile plazma koagülasyon faktörlerinin sentezi bozulmaktadır. KKKA hastalığında meydana gelen karaciğer disfonksiyonu özellikle hastalığın geç döneminde hemostazın bozulmasına katkıda bulunmaktadır (38). Hastalıkta oluşan karaciğer hasarı direkt viral sitopatik etkiye bağlı olarak meydana gelmektedir (44). KKKA hastalığında meydana gelen karaciğer hasarı ile ilgili geniş bilgi KKKA Hastalığı ve Augmenter of Liver Regeneration (ALR) başlığı altında anlatılacaktır.

Mortal seyreden hastalarda anemi, dehidratasyon, şok, serebral kanama, myokard infarktüsü, akciğer ödemi ve plevral efüzyon görülebilmektedir (10). Yapılan postmortem histopatolojik incelemelerde; karaciğerde yaygın nekrotik odak, yağlanma, kupffer hücre hiperplazisi, portal alanlarda mononükleer hücre infiltrasyonu ve sinüzoidal alanlarda genişleme ve safra stazı gözlenmektedir. Akciğerde diffüz alveolar hasar, alveolar kanama alanları, hyalen membran oluşumu ve interstisyel alanların mononükleer hücrelerle infiltrasyonu, dalakta fokal nekroz alanları, kalp dokusunda ise konjesyon ve interstisyel ödem gözlenmiştir (44). KKKA nedeniyle böbrek yetmezliği gelişen başka bir hastada da böbreklerin postmortem histopatolojik incelemesi yapılmış ve sadece glomerüllerde orta dereceli mezengial genişleme saptanmış ve böbrek yetmezliğinin sitokinlerin aracılık ettiği intrarenal hemodinamik disregülasyona bağlı olduğu bildirilmiştir (42).

2.7. Laboratuvar bulguları

Anemi, lökopeni veya lökositoz, trombositopeni, ALT (alanin aminotransferaz), AST (aspartat aminotransferaz), kreatin fosfokinaz (CPK), laktat dehidrogenaz (LDH) ve gama glutamiltransferaz (GGT) düzeylerinde artış görülebilmektedir. Kanama zamanı, PT (protrombin zamanı), INR (international normalized ratio) ve aPTT (aktive parsiyel tromboplastin zamanı) düzeylerinde uzama, fibrin yıkım ürünlerinde artış ve fibrinojende azalma gözlenebilmektedir. İdrar tetkiklerinde proteinüri ve hematüri ortaya çıkabilmekte, oligüri ve azotemi gelişebilmektedir (50, 51). Ağır seyreden olgularda bilirubin, üre ve kreatin değerlerinde artış saptanabilmektedir (50). Erişkin tipi solunum yetmezliği sendromu (ARDS) ve kan gazı bozuklukları tabloya eklenebilmektedir. Klinik olarak iyileşen hastalarda bozulan tüm değerler bir iki hafta içerisinde normale dönmektedir (52).

KKKA hastalığına ait mortalite kriterleri ilk kez 1989 yılında Swanepoel ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (49).

- 1- Kan lökosit sayısı ≥ 10 bin hücre/ml
- 2- Kan trombosit sayısı < 20 bin hücre/ml
- 3- AST değeri ≥ 200 İU/L
- 4- ALT değeri ≥ 150 İU/L
- 5- aPTT ≥ 60 sn veya fibrinojen seviyesi < 110 $\mu\text{g/dl}$

Bu kriterlere göre, klinik semptomların başlamasından sonraki ilk beş gün içerisinde yukarıda belirtilenlerden en az birinin varlığı şiddetli vaka olarak tanımlanmaktadır. Bu bulguların en az birinin varlığında mortalite oranı %90 olarak belirtilmiştir (49).

Bakır ve arkadaşları (53) 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada KKKA hastalarında mortaliteyi öngörmeyi sağlayan bir şiddet skorlaması tanımlamışlar ve daha sonra çok merkezli bir çalışma ile bu skorlamanın validasyonunu yapmışlardır. Bu skorlamaya göre skoru 5 ve altında olanlarda mortalite 0 iken; skoru 6-10 arasında olanlarda mortalite %10, skoru 11 ve üzerinde olanlarda ise mortalite %67 olarak belirtilmiştir (54). Aşağıdaki Tablo 1. 1' de bu skorlamada kullanılan parametreler yer almaktadır.

Parametreler	SINIFLAMA	Şiddet puanı
Yaş	≥60	1
	<60	0
Kanama	VAR	1
	YOK	0
Organ yetmezliği	VAR	1
	YOK	0
Hepatomegali	VAR	1
	YOK	0
AST	<5X NÜS	0
	≥5X NÜS	1
ALT	<NÜS	0
	> NÜS	1
LDH	<3X NÜS	0
	≥3X NÜS	1
BEYAZ KÜRE SAYISI	<10.000 hücre/ml	0
	≥10.000 hücre/ml	1
DİC Skoru		
Trombosit sayısı	≥100.000 hc/ml	0
	≥50.000- <100.000	1
	<50.000	2
PT uzaması	<3sn	0
	≥3- 6sn	1
	≥6sn	2
aPTT	<70sn	0
	≥70 sn	1
INR	<1,6	0
	≥1,6	1

Tablo-1. 1: Şiddet skora parametreleri. NÜS: Normal üst sınır

2.8. Tanı

KKKA hastalığının morbidite ve mortalitesinin yüksek olması hızlı bir şekilde tanı konulmasını gerektirmektedir. Ayrıca erken tanı konulması hastalara erken müdahale edilmesi ve nozokomiyal infeksiyon gelişmesinin önlenmesi açısından oldukça önemlidir. Hastalardaki ateş, halsizlik, kanama gibi klinik semptomlarla birlikte endemik bölgeden gelme, kene ısırığı veya kene teması öyküsü olması, hasta insanların veya hayvanların kan veya dokularıyla temas etmesi önemlidir. Endemik bölgeye seyahat öyküsü KKKA tanısı açısından önemlidir.

Viremi hastalığın başladığı günden itibaren on ikinci güne kadar saptanabilmektedir. Bu dönem içerisinde kan ya da doku örneklerinden virüs izole edilebilmekte ve hücre kültürlerinde (CER, vero E6 hücre kültürleri) veya süt emen yavru farelerin beynine inokulasyonu ile üretilebilmektedir (55). Viral antijenlerin tespiti için enzim linked immunosorbent assay (ELISA), indirek floresans antikor (IFA) ve çeşitli immünohistokimyasal yöntemler kullanılabilir (56, 44). Revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi ile virüs genetik materyali tespit edilebilmektedir. Özellikle uygun şekilde saklanan örnekler bu yöntemle test edildiğinde oldukça başarılı sonuçlar alınabilmektedir (31, 57, 58).

Hastalığın ilk haftası içerisinde virüs izolasyonu, antijen testleri ya da RT-PCR en uygun tanı testleridir. Hastalığın altıncı gününden itibaren virüse karşı gelişmiş antikorlar serumda ELISA veya IFA yöntemi ile tespit edilebilmektedir (59, 60). Hastalığın ortalama 7-9. günlerinden itibaren Ig M ve Ig G sınıfı antikorlar ortaya çıkmakta, ilerleyen gün ve haftalarda ise titreleri artmaktadır. Ölüm erken dönemde gelişebildiğinden, özellikle ciddi vakalarda henüz yeterli antikor titresi gelişmeden vakalar kaybedilmektedir. Bu nedenle antikor düzeylerinin saptanması hastalığın ilk haftasında tanıya yardımcı olmaz. Serum Ig M düzeyleri dört aya kadar tespit edilebilirken, IgG düzeyleri ise beş yıl kadar pozitif kalabilmekte ve zaman içerisinde tespit edilemeyecek düzeylere gerileyebilmektedir (61).

2.9. Ayırıcı Tanı

Ayırıcı tanıda *riketsiyoz*, *erlihiyoz*, *leptospiroz*, *salmonelloz*, *borreliyoz* ve *bruselloza* ilaveten *meningokokal* infeksiyonlar, *Q ateşi*, *Sıtma*, *Sarı Humma*, *Dang ateşi*, *Omsk kanamalı ateşi*, *sepsis*, *sistemik inflamatuvar cevap sendromu (SIRS)*, *idiyopatik trombositopenik purpura (ITP)*, febril nötropeni, vitamin B12 eksikliği, *metamizol* eksikliği ve diğer VKA yapabilen etkenler de düşünülmelidir (10, 62).

2.10. Tedavi: KKKA hastalığının tedavisinde 3 ana yaklaşım söz konusudur.

2.10.1. Destek Tedavisi

KKKA hastalığının tedavisinde destek tedavisi esas tedaviyi oluşturmaktadır. Uygulanan destek tedavisinin düzenlenmesinde hastanın hem vital bulgularının hem de laboratuvar değerlerinin takibi önem taşımaktadır. Hastalara gerektiğinde trombosit süspansiyonu, taze donmuş plazma ve eritrosit süspansiyonu gibi kan ürünleri ile

destek tedavisi uygulanmaktadır (9, 63). Ağır ve çoklu organ yetmezliği gelişen hastalarda sıvı-elektrolit replasmanı, gerektiğinde diyaliz uygulanması, hatta yoğun bakım ve solunum desteği gerekebilmektedir (64). Takip edilen hastalarda günlük tam kan sayımı yapılarak hematolojik parametreleri yakından izlenmelidir. Olası kanama odaklarının kontrolü yapılarak, zorunlu durumlar dışında kanamaya neden olabilecek kas içi enjeksiyonlardan ve koagülasyon sistemini etkileyebilecek ilaç kullanımından kaçınılmalıdır (9).

2.10.2. Antiviral tedavi

Hastalığın henüz özgül bir antiviral tedavisi bulunmamaktadır. Genelde hafif olgular kendiliğinden iyileşebilmektedir. KKKA' da etkinliği tartışılan ve günümüzde hastalığın özgül tedavisinde kullanılabilen tek ilaç seçeneği *ribavirin*' dir. Daha önceki yıllarda oral *ribavirinin* KKKA tedavisinde yararlı olduğuna dair olgu sunumları ve retrospektif kontrollü çalışmalar bulunmaktadır (25, 2). Ribavirinin yapılan in vitro çalışmalarda hücre kültürlerinde virüs replikasyonunu durdurabildiği saptanmıştır (63). Tignor ve ark. (4)' nin yaptığı çalışmada ribavirinin enfekte farelerde virüs replikasyonunu azalttığı, organ patolojilerini önleyebildiği ancak viremiyi engelleyemediği saptanmıştır.

Son yıllarda etkin bir tedavi seçeneğinin olmaması nedeniyle yeni ilaç arayışları gündeme gelmiştir. Yapılan bir çalışmada CCHFV ile enfekte edilmiş farelerde ribavirin, arbidol ve favipirevirin etkinliği karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada arbidolün in vivo olarak etkisiz olduğu saptanmıştır. Yine aynı çalışmada favipirevirin in vivo ve invitro oldukça potent olduğu saptanmıştır (65). Ancak tedavi konusunda daha fazla çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

2.10.3. Diğer Tedavi Seçenekleri

KKKA hastalarında nötralizan antikor yanıtı zayıftır. Özellikle ölen hastalarda IgG cevabı sağ kalanlara göre düşük bulunmuştur (66). Ayrıca ölen hastalardaki viral yükün hastaneye kabulde sağ kalanlara göre daha yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir (67). Yine sağ kalan hastalar antikor oluşumu ve bu antikorlarla virüs replikasyonunun baskılanması nedeniyle hastalığı daha kolay atlatabilmektedir. Bu bilgilerden yola çıkarak hastalara erken dönemde hiperimmün serum verilmesinin virüs klirensinin sağlanmasında faydalı olabileceği düşünülmüştür. Bununla ilgili olarak ülkemizde immün serumun etkinliğini araştıran

çalışmalar yapılmıştır. Hastalığı geçirenlerden elde edilen konvelesan plazma, pasif immünoterapi olarak toplam yedi hastaya uygulanmış ve bu hastaların iyileştiği bildirilmiştir (68, 69). Aydın ve ark. (70) tarafından yapılan başka bir çalışmada 22 KKKA vakasına immün serum uygulanmış ve çalışma sonucunda vakalar arasında mortalite açısından istatistiksel olarak fark bulunmamasına rağmen; hastaların trombosit ve diğer laboratuvar değerlerinde daha erken düzelme olduğu bildirilmiştir. İyileşmiş hastalardan elde edilen immün plazma uygulanması geçmişte yararlı bulunmasına rağmen bu konu hakkında yeterli klinik veri bulunmamaktadır (10, 9).

2.11. Korunma ve Kontrol

Bütün infeksiyon hastalıklarının kontrolünde olduğu gibi KKKA hastalığında da korunma ve izolasyon önlemleri büyük önem taşımaktadır (71). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)' nün önerilerine göre hastanın kan ve vücut sıvıları ile korunmasız temastan kaçınılmalıdır. Bu şekilde bir temasın söz konusu olması halinde temas edenin en az on dört gün kadar ateş ve diğer belirtiler yönünden takip edilmesi gerekmektedir. Mümkün olduğu kadar kenelerin bulunduğu alanlardan (hayvan barınakları, piknik amaçlı gidilen su kenarı, otlak şeklindeki yerler, çalı çırpı ve gür ot bulunan yerler, av alanları, orman vb.) kaçınılması gerekmektedir. Hayvancılıkla uğraşanlar hayvanlarını kenelere karşı uygun akarisitlerle düzenli olarak ilaçlamalı ve hayvan barınakları kenelerin yaşayamayacağı şekilde yapılmalıdır. Kene saldırılarından korunmak için repellent olarak bilinen böcek kovucular cilde sürülerek veya elbiselere emdirilerek kullanılabilir. Açık alanlarda yapılabilecek kene mücadelesi amacıyla; *carbaryl* ve *propoxur*, *deltamethrin* ve *lambda-cyhalothrin*, *permethrin*, *pirimiphos-methyl* kullanılabilir.

İlk olarak 1970 yılında inaktive aşı Sovyet askerlerini KKKA'den korumada kullanılmıştır. 1971 yılında aynı askerler tekrar aşılanmış, 1974 yılında ise Sovyet askerlere uygulanan aşı Bulgaristan'da onaylanmıştır. Gönüllülerde 15-20 yıldan beri 2 yıl arayla yapılan aşılama sonrası antikor düzeyi yüksek bulunmuştur (72).

3. SİTOKİNLER

İnsanlarda immün sistem, doğuştan gelen bağışıklık sistemi ve adaptif bağışıklık sistemi olmak üzere iki bölümden oluşmaktadır. Patojen bir mikroorganizma tarafından istila edilen konakta birkaç dakika içerisinde doğuştan gelen bağışıklık sistemi aktif hale geçerek, enfeksiyonun başlangıç saat ve günleri sırasında savunmayı koordine etmektedir. Doğuştan gelen bağışıklık sistemi, spesifik olmayan bir koruma sağlamakta ve sinyal mekanizmalarıyla patojenlere karşı adaptif bağışıklık mekanizmalarını harekete geçirmektedir (73, 74).

Aktive olmuş lenfosit ve makrofajlar başta olmak üzere birçok hücreden sentezlenen ve diğer hücrelerin fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynayan hormon benzeri peptid yapıdaki maddelere sitokin denilmektedir. Sitokinlerin enfeksiyon hastalıklarında, hücreler arası etkileşimde, hücre farklılaşması, aktivasyonu ve doku onarımında biyolojik rolleri bulunmaktadır (75). Sitokinler, genelde otokrin (bir hücre tarafından salgılanan sitokinin aynı hücre üzerine etkisi) veya parakrin (belli bir hücre tarafından salgılanan sitokinin yakındaki komşu hücreye etkisi) etkiye sahip hücresel düzenleyici proteinlerdir. Genellikle uyarı sonucu sentezlenir, depo edilmezler. Sentez ve salınımları geçici ve kısa sürelidir (76).

Sitokinler immün sistemde ilk basamağı oluşturmaktadırlar. Toksik maddeler ve mikrobiyal ürünler gibi yabancı ajanlar immün sistemi uyararak sitokin salınımına sebep olmaktadır (77). Sitokinler lökosit ve diğer hücrelerin hareket, gelişme ve farklılaşmalarına etki ederek, yabancı antijen ve zarar verici etkenlere karşı konağın cevabını düzenlerler. Ayrıca immün yanıtta rol alan lenfoid, hematopoetik ve inflamatuvar hücreler arasındaki ilişki ve hematopoezisin kontrolü sitokinlerce sağlanmaktadır. Sitokinler lenfositler yanında granülosit ve mast hücresi gibi diğer inflamatuvar hücrelerce de sentezlenebilmektedirler.

Aktive T lenfositler tarafından sentezlenip salınan sitokinlere lenfokin; aktif monosit ve makrofajlardan sentezlenip salınan sitokinlere monokin ve lökositler arasında etkileşimi sağlayan sitokinlere de interlökin adı verilmektedir. İnterlökin adı verilen sitokinlerin ana hedefi T ve B lenfositler olabileceği gibi fibroblast ve endotel hücreleri de olabilir (75). İnterlökinler lökositlerde üretildikten sonra, lökosit fonksiyonlarını düzenleyerek, lökositler arası iletişimde rol almaktadırlar. Lökositler

dışında fibroblast, epitel ve endotel hücrelerinde de üretilerek diğer hücreleri de etkileyebilirler (78).

Sitokinler lenfoid hücrelerin ve diğer bazı hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşmalarını sağlama, immun yanıtı şiddetlendirme ya da baskılama şeklinde düzenleme, inflamasyona katılan hücreleri aktive etme ve inflamasyon alanına toplama gibi biyolojik etkiler gösterirler. Ateş, akut faz yanıtı, antiviral etkinlik, kemotaksis yaptıkları biyolojik etkilerden bazılarıdır (79).

Sitokinler fonksiyonlarına göre dört gruba ayrılmaktadır:

- 1) Doğal immünite mediatörleri olan sitokinler;
 - a) Tip 1 interferonlar
 - b) TNF (Tümör nekroz faktör)
 - c) İnterlökin-1 (IL-1)
 - d) İnterlökin-6 (IL-6)
 - e) Kemokinler
- 2) Lenfosit aktivasyonu, çoğalma ve farklılaşmasını düzenleyen sitokinler;
 - a) İnterlökin-2 (IL-2)
 - b) İnterlökin-4 (IL-4)
 - c) Transforming Growth faktör (TGF)
- 3) İnflamasyonda düzenleyici rol oynayan sitokinler;
 - a) İnterferon-gama (IFN- γ)
 - b) Lenfotoksin (Nötrofil aktivatörü)
 - c) İnterlökin-12 (IL-12)
 - d) İnterlökin-10 (IL-10)
- 4) Hematopoezi uyaran sitokinler;
 - a) Stem cell faktör (SCF)
 - b) İnterlökin-3 (IL-3)
 - c) Monosit-makrofaj koloni stimüle eden faktör (M-CSF)
 - d) Granülosit koloni stimüle eden faktör (G-CSF)
 - e) İnterlökin-7 (IL-7)
 - f) İnterlökin-9 (IL-9)
 - g) İnterlökin-11 (IL-11) (80)

Sitokinler hücre membranlarının üzerine yerleşmiş reseptörler aracılığıyla hedef hücreleri uyarırlar. Sitokin reseptörleri genelde bir başka sitokin ya da bizzat sitokinin kendisinin bağlanması ile regüle edilebilmektedirler (79).

Sitokinler, immün yanıtın başlamasını ve sürmesini de düzenlerler (79, 81). Bu çerçevede patojenlere karşı dirençte, aracılık edecek immün yanıtın tipini ve efektör mekanizmalarını da belirlerler. Ancak aşırı sentezlendikleri takdirde bunların patogenezi de indükleyebilirler. Belli bir hücre tipi, birbirine sinerjik veya antagonistik davranabilen birçok sitokin molekülünü sentezleyebilir (79).

Sitokinler, hedef hücreye ve olayın gelişim evrelerine göre değişebilen etkiler gösterebilmektedirler. Örneğin güçlü bir immünsüpresif sitokin olarak bilinen TGF- β , olgunlaşmamış hücrelerle, istirahat halindeki hücrelerin büyümesini stimüle ederken, aynı hücre popülasyonları aktive olduklarında onları inhibe etmektedir. Yine IL-6 önceleri proinflamatuvar sitokin olarak kabul edilirken, bu sitokinin önemli antiinflamatuvar ve immünsüpresif etkilere de sahip olduğu ortaya konulmuştur. Aslında immünolojik olarak aktif sitokinlerin büyük çoğunluğu pleotropik ve çoğul aktivite göstermektedirler (82).

Sitokinler aynı hücre tipinde farklı etkiler oluşturabildikleri gibi, farklı hücre tiplerine göre de farklı etkiler gösterebilmektedirler. Örneğin, IL-1 hepatositlerde akut faz proteinlerinin sentezini, endotelde adezyon moleküllerinin sentezini, makrofajlarda prostanooidlerin ve nitrik oksidin sentezini indüklemektedir (79).

Sitokinler karşılıklı etkileşimlerinden doğan birçok değişik fonksiyona aracılık ederler. Ancak, bir sitokinin tek veya temel fonksiyonu olup diğer sitokinlerle replase edilemeyen özellikleri de vardır. Örneğin, IL-12 için Th1 alt grup indüksiyonu, IL-4 için Th2 alt grup indüksiyonu ve IgE yapımı, IL-5 için eozinofillerin çoğalma ve farklılaşması, IL-18 için IFN- γ indüksiyonu temel fonksiyonlar olarak gösterilebilir (79).

Sitokinler, genelde normal veya orta şiddetteki immün ve inflamatuvar yanıtta lokal etkilidirler. Lokal yanıt sırasındaki sitokin yoğunluğu periferik kanda çok kez anlamlı düzeylere ulaşmaz. Sistemik yanıt ise, sitokin setlerindeki yoğunluğun, sistemik inflamasyon sonucu kanda yüksek düzeylere ulaşması halindedir. Bu durum septik şok, serebral malarya ve toksik şok sendromunda olduğu gibi konakta hasarlayıcı patolojilere yol açabilmektedir (79).

Viral kanamalı ateş infeksiyonlarında, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, MCP 1, RANTES, TNF- α ve NO'yu içeren bir grup inflamatuvar mediatörün ekspresyonunu tetikler. Bu mediatörlerin virüslerce indüklenmiş ekspresyonları hastalığın ilerlemesine katkıda bulunan immünolojik dengesizlikle sonuçlanır (7).

İnfeksiyona gecikmiş IFN cevabı kontrol edilemeyen viremi ile sonuçlanır. Erken IFN cevabı viremiyi azaltır, hepatik hasar derecesini azaltır, hastalık tam iyileşme ile sonuçlanır. Genellikle Tip 1 IFN (IFN- α , IFN- β) cevabı viral kanamalı ateş patogenezinde önemli bir role sahip gibi görünmektedir (83). Mortal seyreden hastalarda infekte hücrelerde IFN yapımı yetersiz ya da IFN yanıtı viremiyi önleyici düzeye ulaşmamaktadır (83). Büyükhan ve ark'ının (84) yaptıkları bir çalışmada KKKA hastalığının akut ve konvelesan dönemlerinde bakılan IFN- α ve IFN- β düzeylerini viral yük düzeyleri ile karşılaştırmışlardır. Ölen kişilerde viral yük, IFN- α ve IFN- β seviyelerinin yaşayan hastalardan daha yüksek olduğu saptanmıştır. Akut dönemde viral yük, IFN- α ve IFN- β seviyeleri yüksek ise hastalığın daha şiddetli geçirileceği ve ölüm riskinin daha yüksek olacağı öngörülebilmektedir. Bu çalışma sonuçlarından yola çıkıldığında hastalarda yüksek seviyelerdeki IFN olmasına karşın viral replikasyonu baskılamada yetersiz kaldığı görülmektedir.

Memelilerde bulunan TLR, yapısal olarak patojenlere ait mikrobik bileşenleri tanıyan özel bir yüzey molekülleridirler. Reseptörleri esas olarak lenfositler, makrofajlar ve dendritik hücreler (DC) gibi doğuştan gelen bağışıklık hücrelerinde bulunmaktadır (85). TLR uyarılması inflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin üretimini yol açmakta, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin aktivasyonuna neden olmaktadır. TLR 8 ve TLR 9 ise virüs tanıyan reseptörlerdir. Engin ve ark. TLR 8 ve TLR 9'un hastalardaki polimorfizm sıklığını araştırmış; hasta grubunda TLR 8 ve 9'un polimorfizminin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek düzeyde olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, ölen hastalarda TLR 9 düzeyinin daha yüksek olduğunu saptamışlardır (13).

Viral kanamalı ateş etkenlerinden Ebolavirüs ile yapılan bir çalışmada ölen ve yaşayan hastaların serum sitokin seviyeleri kontrollerle karşılaştırılmış ve IL-2, IL-10, TNF- α ve IFN- γ seviyeleri ölen vakalarda bariz bir şekilde yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar immün aktivasyonun yüksek derecede olduğunu ve Ebola kanamalı ateş hastalarında ölüme katkıda bulunduğunu göstermektedir (86).

Daha önce KKKA hastalarında IL-6, IL-10, IL-12 ve TNF- α gibi sitokinlerin düzeyi araştırılmış ve bu sitokinlerin ölen hastalarda yaşayanlara göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır (87). Kaya ve ark. KKKA tanısı almış hastalarda yaptıkları bir çalışmada; ölen ve yaşayan hastaların IL-6, IL-10, TNF- α ve IFN- γ seviyelerini karşılaştırmışlardır. Ölen kişilerde IL-6 seviyelerinin öldükleri güne kadar yüksek seviyede olduğunu, 4. ve 7. günlerde pik yaptığını saptamışlardır. Yaşayanlarda ölenlere göre ardışık günlerde IL-6 seviyelerinin düştüğünü gözlemişlerdir. Aynı çalışmada IL-10 seviyesinin ölen hasta grubunda tedricen artmasına karşın; yaşayan hastalarda ilk güne göre azalma olduğu gözlenmiştir (88). Yine aynı çalışmada ölen hastalarda TNF- α seviyesine ardışık günlerde bakılmış; TNF- α seviyesinin 5. ve 7. günlerde pik yaparak sürekli yüksek seyrettiği, yaşayanlarda ise başlangıç seviyesiyle aynı düzeyde seyrettiği gözlenmiştir. Ölenlerde virüse karşı gelişen IgG antikor titresi yeterli düzeye ulaşmazken, yaşayanlarda ardışık günlerde tedricen yükseldiği saptanmıştır. Aynı çalışmada ölen ve yaşayan hasta grubu arasında başlangıç serum IFN γ seviyeleri açısından fark yokken; ölenlerde 5. günde IFN γ seviyesinin pik yaptığı saptanmıştır. Bu çalışmada ölen hastaların hiçbirinde antikor yanıtı gelişmemiş olması bu hastaların immün sistemlerinde defekt olduğunu düşündürmektedir. Proinflamatuvar sitokinlerin kontrolsüz salınımı mortalitede önemli rol oynamaktadır (88).

3.1. İnterlökin-7

İnterlökin-7 diğer sitokinlere benzer şekilde T hücreleri, natural-killer hücreler (NK), monosit, stromal ve non-hematopoetik hücreler gibi immün hücreler tarafından üretilen pleotropik immün düzenleyici bir proteindir (89).

İnterlökin-7 ilk olarak 1988 yılında Immunex Araştırma ve Geliştirme şirketi tarafından keşfedilmiştir. Bu dönemlerde yapılan çalışmalarla IL-7' nin lenfoid populasyon üzerine proliferatif etkileri olduğu gösterilmiştir. Gerçekten de IL-7' nin tümör gelişimine neden olabileceği, lenfoproliferatif hastalıkların, periferik ve cilt lenfomaların gelişmesine neden olabileceği gösterilmiştir (89).

İnterlökin-7; disülfid bağları ile çapraz bağlı 4 α heliks içeren 25 kD ağırlığında tek zincirli glikoprotein yapıda yeni bir sitokindir. IL-7, Common γ -zincir sitokin ailesindedir. İnsan IL-7 geni 33 Kb' den daha geniş alanlara yayılan 8q12-

q13 kromozomda yer almaktadır. IL-7 kemik iliği ve timüs stromal hücreleri, deri keratinositleri ve bağırsak epitel hücreleri tarafından üretilebilmektedir (89).

3.2. IL-7' nin Biyolojik Fonksiyonları

IL-7 T ve B lenfosit hücrelerinde apoptozisi önleyici etkileri olan bir büyüme faktörüdür. T ve B lenfositlerin, gama delta T hücrelerinin büyümesini, çoğalmasını ve aktivasyonunu sağlamaktadır. Ayrıca doğal öldürücü hücrelerin büyümesini arttırmaktadır. Sitotoksik T hücrelerinin üretimini artırır ve periferik kan monositleri içinde litik aktivasyonu stimüle eder. IL-7 lenfopenide lenfoid rejenerasyon hızlandırabilir. Hücre olgunlaşması ve farklılaşması IL-7 tarafından uyarılarak meydana gelmektedir (89, 90). Hayatta kalma, proliferasyon ve/veya CD4+ ve CD8+ T-hücreleri aktivasyonu, B-hücreleri ve gama delta T hücrelerinin gelişmesinde önemli bir rol oynamaktadır (91, 92). Bunların yanında anti-apoptotik Bcl-2, Bcl-xL ve MCL-1 proteinlerini regüle ederek T lenfosit apoptozu inhibe etmektedir (92, 93, 94). Pro-apoptotik genler olan Bim, Bmf ve Puma genlerinin ekspresyonunu önlemektedir. Ayrıca splenositlerde IFN-gama üretimi ile gecikmiş tip hipersensivite yanıtını uyarmaktadır.

Özetle IL-7' nin genel olarak immunsupresif etkileri mevcuttur. KKKA hastalığının patogeneğinde sitokin yanıtı önemli rol oynamaktadır. Abartılı inflamatuvar yanıt esnasında salınan sitokinlerin sistemik etkileri toksik etkiler ortaya çıkararak organ yetersizliklerine neden olabilmekte ve mortalite gelişme riskini arttırabilmektedir. Salgılanan proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasındaki denge hastalığın seyrini belirlemektedir. Sepsisli hastalarda IL-7 tedavisi ile salgılanan abartılı sitokinlere bağlı gelişen organ yetersizlikleri ve artmış mortalite riskinin azaltılabileceğine ilişkin çalışmalar mevcuttur (94).

4. Augmenter of Liver Regeneration (ALR)

Karaciğerin olağanüstü bir rejenerasyon yeteneği olduğunun saptanmasının ardından bu olaya katılan faktörleri belirleme uğraşısı; birçok mitojenin, komitojenin ve inhibitörlerin keşfine yol açmıştır. Bunlar arasında, başlangıçta karaciğer uyarıcı madde veya hepatopoetin olarak adlandırılan ve artık yaygın olarak “Karaciğer rejenerasyonunu arttırıcı” (ALR) olarak bilinen bir protein vardır. ALR daha sonra saflaştırılmış ve sıçan, fare ve insanda klonlanmıştır. Hem doğal hem de klonlanmış ALR kısmi hepatektomi sonrasında karaciğer rejenerasyonunu arttırmaktadır. Hayvan modellerinde portokaval şant cerrahisine bağlı olarak meydana gelen patolojileri önlediği gösterilmiştir. ALR karaciğerde sadece hepatositler tarafından üretilmekte ve salgılanmaktadır. ALR, G-proteinine bağlı reseptör ile kupffer hücrelerinde TNF- α , IL-6 ve nitrik oksit sentezini uyarmaktadır. Ayrıca ALR hepatositlerde otokrin etki de oluşturabilmektedir. İlginç bir şekilde, intrasellüler ALR' nin azalması mitokondriyal fonksiyonlarda hızla bozulmalara ve hepatositlerde apoptotik/nekrotik hücre ölümüne neden olmaktadır. Bu nedenle ALR karaciğer hücreleri için bir sağ kalım faktörü olarak anılmaktadır. ALR, *Saccharomyces cerevisiae* mayasında bulunan solunum ve canlılık için gerekli olan ERV1 (essential for respiration and viability 1) proteini ile önemli düzeyde homoloji göstermektedir. Bu özelliğinden dolayı ALR' nin bütün organlarda yaygın olarak bulunması şaşırtıcı değildir ve dokuya özel fonksiyonları olabilir. Bunun dışında, 22 kDa ağırlığındaki naif ALR proteininin translasyon sonrası üç farklı molekül ağırlığındaki protein moleküllerine dönüşmesi (38-42 kDa), türe modifikasyonu ve ALR molekülünün mitokondri, sitozol, endoplazmik retikulum ve nukleusda bulunması ALR' nin hücrede çeşitli fizyolojik fonksiyonlarda önemli bir rol oynayabileceğine işaret etmektedir. Mevcut bulgular, ALR' nin süfhidril oksidaz aktivitesinin bulunduğu ve bunun yanı sıra proteinlerin Fe/S matürasyonunu indükleyerek mitokondriyal oksidatif fosforilasyon, sitokrom c redüksiyonu ve belirli protein aktivitelerinin düzenlenmesinde yer alabileceğine de işaret etmektedir. Bu nedenle, ALR' nin birden çok fonksiyonu var gibi görünse de, çeşitli organlardaki rollerine ilişkin bilgiler henüz yetersizdir (95).

4.1. ALR' nin Lokalizasyonu

ALR mRNA' sı, sıçan ve farenin kalp, beyin, dalak, akciğer, iskelet kası, böbrek, karaciğer ve testisinde eksprese olmaktadır. En fazla ekspresyon testislerde, ardından karaciğerde olmaktadır. ALR karaciğerin bütün bölgelerinde eşit oranda bulunmaktadır (95). ALR ve ERV1 mitokondrilerin zarlar arası alanında bulunmaktadır (96). ALR ayrıca sitozol ve nukleusta ve ERV2 (essential for respiration and viability proteini 2) endoplasmik retikulumda bulunmaktadır (97). İlginç şekilde, yalnızca bir intraselüler protein olan ERV1'den farklı olarak ALR serumda bulunmaktadır (98). Bundan başka, ALR hepatositlerde çok bol miktarlarda eksprese olurken, mayada ERV1 ekspresyonu çok düşüktür. ALR ayrıca beynin bütün bölgelerinde, nöronlarda Glial fibriller asidik protein (GFAP) ile birlikte bulunur ve özellikle nukleus ile mitokondrilerin dışında da mevcuttur (95).

4.2. ALR' nin Fonksiyonları

4.2.1. Hepatositlerin Canlılığını Sürdürmesi ve Rejenerasyonu

Yapılan deneyler, değişime uğramamış erişkin karaciğer dokusu dışında, rejenerasyon gösteren veya hiperplastik karaciğerin ham özütlerinin kısmi hepatektomi sonrası, karaciğer rejenerasyonunu arttıran ve portakaval şanta bağlı hepatik atrofiyi önleyen ALR-benzeri aktivite içerdiğini göstermiştir. Bu gözlemlere dayanarak, normal erişkin karaciğerinde ALR' nin olmadığı öne sürülmüştür. Ancak, ALR mRNA ve proteininin normal sıçanda karaciğer dahil çeşitli dokularda ekspresyonunun saptanması ve hepatositlerde eşit miktarlarda ALR' nin (mRNA ve protein) bulunması, fizyolojik fonksiyonun olduğunun göstergesi olmuştur (95).

ALR' nin mayalardaki homoloğu olan ERV1' in mitokondrilerin biyogenezi, normal mitokondri morfolojisi ve fonksiyonlarının devamının sağlanması için gerekli olması; ALR' nin fizyolojik öneme sahip bir protein olabileceğinin göstergesidir (99). ERV1 geninin bozulması veya anlamsız mutasyonu, mitokondri iç membranında değişiklikler, mitokondrial genomun tamamen kaybı, hücre bölünme döngülerinde durma, birkaç replikasyon döngüsünden sonra mayanın ölmesi ile sonuçlanan ısı-koşullu mutasyona yol açmaktadır (95).

Mutasyona uğramış ERV1 geni ile *S.cerevisiae* ölümünden önceki birkaç günlük gecikme süresinin (lag period) aksine, ALR sentezinin ALR-mRNA antisens oligonükleotidi (ALR-AS) ile inhibisyonu hepatositlerde hızlı (saatler içinde)

apoptotik/nekrotik ölüme neden olmuştur (5). Hepatositlerde halen anlamlı düzeylerde rezidüel ALR varken, hızlan(dırıl)mış ölüm gerçekleşmektedir. Yapılan subselüler incelemeler, ALR-AS ile transfekte olan hücrelerde ATP' nin tükenmesinin ardından ALR' nin hızla tükendiğini ortaya koymuştur (5). Bu sonuçlar ALR' nin mitokondri içinde ve dışında oldukça dinamik hareket edebildiğine işaret etmektedir.

4.2.2. ALR ve EVR1 fonksiyonel olarak değiştirilebilir/ birbirinin yerine geçebilir mi?

Hepatositlerin ve *S.cerevisiae'* nin varlığını sürdürmesi için gerekli olan, sırasıyla, ALR ve ERV1' in mitokondrilerde bulunması, bu homolog proteinlerin fonksiyonel olarak birbirinin yerine geçip geçemeyeceği sorusuna yol açmıştır. ALR' nin köpeklerde portakaval şanta bağlı karaciğer atrofisini önlediğinin bulunması proteinin karboksi terminal dizisinde antiatrofik/rejeneratif aktivite olduğunu düşündürmüştür. Hüresel atrofinin veya canlılığın kaybının önlenmesinde, onların karboksi terminal dizilerinin mutlak gerekli olmasına ek olarak, bu gözlemler ALR ve EVR1 proteinlerinin yapısal ve fonksiyonel benzerliği olduğunu kanıtlamaktadır (95). Tersine, ALR veya ERV1 proteinlerinin mitokondriye translokasyonu için gerekli olan amino terminal dizileri birbirlerinin yerine kullanılamaz (95).

4.3. ALR' nin Ekstrasellüler Etkileri

4.3.1. Hepatositler üzerindeki etkileri

22 kD' luk rrALR (rekombinant rat ALR) sıçan hepatositlerinde DNA sentezini stimüle etmez. Ayrıca, radyoligant bağlama veya çapraz bağlama çalışmaları sıçan hepatositlerinde ALR reseptörünü ortaya koymada başarısız olmuştur. rhALR (rekombinant human ALR)' nin ise insan hepatositlerinde DNA sentezi üzerine etkisi, en güçlü hepatosit mitojeni olan HGF (hepatosit growth faktör)' nin etkileri ile benzer şekildedir (100). Kısa insan ALR' si EGF (epitelyal growth faktör), TGF- α (transforme growth faktör- α) veya HGF ile eş güçte hatta daha güçlü iken, fizyolojik sıçan ALR proteininin hepatositlerde DNA sentezini stimüle etmekte neden başarısız kaldığı ileri inceleme gerektirmektedir. Bir olasılık, kısa rhALR' nin bu mitojenlere (EGF, TGF- α veya HGF) benzer şekilde hücre proliferasyonuna bağlı intrasellüler sinyalizasyonu başlatabileceğidir. Bu bağlamda, insan hepatoma HepG2 hücre hattında kısa rhALR' nin reseptörde tirozin

fosforilasyonunu ve bundan sonraki mitojen ile aktive olan protein kinazın aktivasyonunu uyardığı belirtilmektedir. EGF reseptörü, bazı G-proteinine-bağlı veya diğer tanımlanmamış reseptör agonistleri de dahil olmak üzere birkaç mitojene bağlanabildiğinden kısa rhALR' nin EGF reseptörü üzerinde benzer şekilde etki edebileceği öne sürülmüştür. Bununla birlikte, rhALR ile insan hepatosit proliferasyonunun EGF-reseptöründen bağımsız ve ERK1/2-MAPK-bağlı olduğu bildirilmiştir (101).

İnsan hepatositlerinde kısa rhALR, NFκB aktivasyonunu ve polyamin sentezini stimüle eder. In vitro olarak, sıçan hepatosit kültüründe polyaminlerin büyüme faktörüne bağlı DNA sentezinde önemli bir rol oynadığı saptanmıştır (102). In vivo olarak, polyaminler hepatik rejenerasyon ve karaciğer transplantasyonu sonrasında sıçanların sağ kalım oranını arttırmak için gereklidir. Ayrıca, in vivo hepatosit rejenerasyonu sırasında ve in vitro DNA sentezi sırasında, HGF ve EGF bir polyamin olan putresin düzeylerini de artırır. Bu nedenle, ALR polyamin düzeylerini yükselterek karaciğer rejenerasyonunu arttırabilir (100). Bazı gruplar, NFκB ve/veya c-Myc sinyal yollarını aktive eden ve doğrudan veya hazırlayıcı/priming ajanları aktive ederek karaciğer rejenerasyonunu arttıran ve sitokrom p-450 enzimlerini inhibe eden HGF, EGF, TNF-α, IL-6 ve IL-1 gibi faktörleri göstermişlerdir. ALR' nin benzer etkisi olup olmadığı test edildiğinde, insan hepatositlerinde rhALR' nin sitokrom p-450 enzimlerinin down-regülasyonuna neden olduğu bulunması bunun ALR' nin karaciğer rejenerasyonundaki bir başka mekanizma olabileceğini düşündürmüştür (103). Hepsi birlikte değerlendirildiğinde, bu bulgular ALR' nin NFκB, c-Myc, polyaminler ve sitokrom P-450' yi etkileyerek hücre proliferasyonunu etkileyebileceği önermesine yol açmıştır. Ancak yukarıda açıklanan ALR' nin hepatositler üzerindeki in vitro etkilerinin in vivo çoğalmalarındaki rollerine uygunluğu belirsizdir.

4.3.2. Kupffer hücreleri ve doğal öldürücü hücreler üzerindeki etkileri

ALR' nin immun sistem hücrelerini etkilemesiyle, inflamatuvar hücreleri ve orada bulunan makrofajları uyararak hepatosit hasarını önlemesi ALR' nin bir diğer etki mekanizması olabilir. Yapılan çalışmalar ALR' nin hepatositlerde doğal öldürücü (NK) hücrelerin litik aktivitesini inhibe ettiğini ortaya koymuştur. Normal karaciğerdeki hepatositler NK hücrelerin zararlı etkilerine dirençli iken, rejenerasyon

gösteren karaciğerdeki hepatositler oldukça duyarlıdır. Bu nedenle, karaciğer rejenerasyonu sırasında NK hücrelerinin hepatositlere hasar vermede etkisiz hale getirilmesi önemlidir. Yapılan bir klinik çalışmada serum ALR düzeylerinin periferik kandan elde edilen NK hücrelerinin aktivasyonu ile negatif korelasyon gösterdiği bulunmuştur (104). İlginç olan, ALR' nin NK hücreleri üzerindeki inhibe edici etkisinin HGF ve IGF-1' inkiye benzer olmasıdır. Bu nedenle, kısmi hepatektomiden sonra yükselen HGF ve IGF-1 düzeyleri dikkate alındığında ALR' nin NK hücrelerinin inhibisyonu yoluyla karaciğer rejenerasyonuna tam olarak katkısının daha fazla incelenmesi gerekmektedir (104).

Kısmi hepatektomiden sonra sıçan karaciğerinden ALR' nin ani salınımı, salgılanan ALR' nin parankimal olmayan hücreleri hepatik rejenerasyonun aracılarını oluşturmak üzere stimüle edebileceğini göstermektedir. Bu varsayım, rrALR' nin hücrelerinde TNF- α , IL-6 ve indüklenebilen NO sentaz (iNOS) ekspresyonunu artırarak NO salgıladığı gözlemiyle desteklenmiştir. ALR' nin kupffer hücreleri üzerindeki bu etkileri kolera toksinine duyarlı G proteinine bağlı yüksek afiniteli reseptör aracılığıyla gerçekleşir. ALR ile indüklenen TNF- α , IL-6 ve NO sentezi endotoksin (lipopolisakkarit (LPS)) ile stimüle edilene kıyasla çok daha ılımlıdır. Bu gözlemler ALR' nin kupffer hücreleri tarafından hepatosit inhibitörlerinin salınımını engellediğini veya inhibe ettiğini, LPS' in ise arttırdığını düşündürmektedir. İn vivo olarak, kısmi hepatektomi sonrasında ALR' nin kupffer hücrelerine etki ederek anti-mitotik ajanların salınımını inhibe etmesi ve ateş yanıtını uyaran ajanların (TNF- α , IL-6 ve NO) salınımını stimüle etmesi karaciğer rejenerasyonunu arttırmasındaki muhtemel mekanizmadır. Bu düşünce kısa rhALR' nin insan primer hepatositlerini ve insan hepatosit tümör hücre hattını (HepG2) etanol, TRAIL, TGF- β ve aktinomisin D ile indüklenen apoptozisden koruduğu yolundaki gözlem ile desteklenmiştir. Kısa rhALR diğer organlardan elde edilen hücre hatlarında benzer etkiler ortaya çıkartmadığı için, bu etkilerin karaciğere özel olduğu görülmektedir. Tersine, kısa rrALR ' nin nöral hücre hattını (SHSY6Y) hidrojen peroksit (H₂O₂) ile indüklenen ölümden koruduğu saptanmıştır (105).

5. Kırım Kongo Kanamalı Ateş Hastalığı ve ALR

KKKA hastalığında histopatolojik çalışmaların vakaların küçük bir kısmında yapılabilmesi nedeniyle hastalığın patogenezi hakkındaki bilgiler sınırlıdır. İmmünohistokimyasal ve in situ hibridizasyon analizleri mononükleer fagositler, endotel hücreleri ve hepatositlerin virusun ana hedefi olduğunu göstermiştir (6).

CCHFV hepatositlerde direk hasar yapmakta ve bu durum karaciğer enzim yüksekliği ve koagülasyon bozukluklarına neden olmaktadır. Viral infeksiyon ile karaciğerde meydana gelen parankimal hasar, virüsün direk sitopatik etkisiyle meydana gelen hücresel hasar ile açıklanabilmektedir. Virüsün apoptozu indüklediği ve konakta interferon cevabına neden olduğu tanımlanmıştır (6, 83).

Yapılan bir çalışma, endotelial hücrelerde ve antijen sunan hücrelerde in vitro oluşturulan CCHFV infeksiyonunun hücresel cevaba etkisinin incelemesine fırsat vermiştir (106, 107, 108). Bu çalışmada iki hayvan modeli oluşturulmuştur: İnterferon tip 1(IFN-1) reseptörü hasarlı fareler ile transkripsiyon 1 sinyalizasyonu aktivatörü (STAT-1) ve sinyal dönüştürücüsü defektli fareler. Her iki modelin de CCHFV enfeksiyonunun neden olduğu karaciğer hasarı ve ölüm dahil olmak üzere semptomların hızlıca ortaya çıkmasına duyarlı oldukları gözlenmiştir (109, 110). Bu çalışmalar, in vitro çalışmalarla desteklenen; hepatositlerde yapılan CCHFV' nün indüklediği IFN-1 cevap gecikmesi (111) ile birlikte CCHFV' ne IFN-1 konak cevabı duyarlılığını doğrulamaktadır (112, 113).

Bir çalışmada CCHFV infeksiyonu esnasında karaciğer hücrelerinde meydana gelen erken değişikliklerin daha iyi anlaşılması amacıyla, in vitro olarak hepatosit hücreleri CCHFV ile enfekte edilmiş ve enfekte hücrelerin protein profilleri analiz edilmiştir. Sonuç olarak 243 farklı şekilde ifade edilen protein dizisi tespit edilmiştir. Bu çalışmada biyoinformatik analiz yapılmış, CCHFV infeksiyonundan sonra 79' u apoptozis ile bağlantılı olmak üzere toplam 106 proteinde fonksiyon değişikliği meydana geldiği saptanmıştır. Virüsün hücreye girişi ve nükleositoloplazmik taşınmasının düzenlenmesi, oksidatif stres, apoptoz ve inflamasyonda rol oynayan farklı protein yollarında değişiklikler meydana geldiği saptanmıştır (114).

Diğer bir benzer çalışmada da yine invitro olarak hepatosit hücreleri CCHFV ile enfekte edilmiş, yüksek titrelerde direk sitopatik etki meydana geldiği gözlenmiştir. Ayrıca, bu çalışmada flow sitometrisi ve RT-PCR ile apoptozis

gözlemlenmiştir (115). Öte yandan, hepatositlerde CCHFV çoğaltılması ile meydana gelen apoptozise reseptör aracılığıyla müdahalenin mümkün olabileceğini göstermiştir. Bu da tedavi araştırmalarına ışık tutabilecektir. Ayrıca, CCHFV ile enfekte edilmiş hücrelerde bulunan aşırı Puma, Noxa ve CHOP ifadesi endoplazmik retikulumda meydana gelen stres ve mitokondriyal apoptoz arasındaki ilişkiyi doğrulamaktadır. Bu çalışmada ELISA ile viral replikasyona yanıt olarak IL-8' in artışı görülmüştür, ancak apoptozun IL-8 salgılanmasından bağımsız olduğu da gösterilmiştir (115).

Aynı çalışmada CCHFV ile insanlar için hafif patojen olan veya patojen olmayan bir *Nairovirus*' un hücre yanıtları karşılaştırıldığında; en çarpıcı farkın, direk sitopatik etkinin ve apoptozun meydana gelmemesi olduğu gözlenmiştir. Bu hafif patojen ile enfekte edilen hepatositlerde endoplazmik retikulumda stres ve apoptoz gözlemlenmediği saptanmıştır (115).

Genel olarak bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar CCHFV' nün endoplazmik retikulumda strese neden olabildiğini göstermektedir. Endoplazmik retikulumda meydana gelen stres ile hepatositlerde apoptozis oluşabilmektedir. Virüsün inflamatuvar mediatörleri uyarması ve kısmen hepatosit hücrelerinde apoptozun meydana gelmesi, mitokondriyal ve ölüm reseptör yolları modülü, CCHFV patogenezindeki karaciğerin rolünü açıklayabilir (115).

Viral yük yükseldikçe hepatositlerde hasar oranı artmaktadır. Viral yük mortalite habercisi, hastalığın patogenezi ve karaciğer hasarının derecesini göstermesi bakımından önemlidir. Ayrıca farelerle yapılan in vivo deneylerde CCHFV' nün karaciğer hücreleri içerisinde çoğalabildiği gösterilmiştir (110, 109). Yine çalışmalarda enfeksiyonun 48. saatinde virüsün karaciğer dokusunda yeterli miktarda bulunduğu gözlenmiştir. Viral replikasyonun apoptozis gelişmesine neden olduğu saptanmıştır. Bcl-2 protein ailesindeki değişikliklerin apoptoziste düzenleyici olduğu görülmüştür. Birçok çalışmada viral enfeksiyonların seyri sırasında antiapoptotik genler olan bcl-2 ve bcl-xl düzeylerinin düştüğü, apoptotik olan Bax geninin düzeyinin ise arttığı görülmüştür. Birçok çalışmada viral enfeksiyonların mitokondriyal modülü kullandığı görülmüştür (116). Bu durum HIV, HCV, Dang virüs enfeksiyonlarının seyri esnasında da saptanmıştır (117, 118, 119).

Karaciğer yetmezliğinde ve karaciğer hasarına neden olan bazı hastalıklarda düzeyi yükselen ve karaciğerde apoptozisi engelleyerek rejenerasyona neden olan ALR molekülünün KKKA hastalığının patogeneğinde nasıl rol oynadığı merak konusu olmuştur. CCHFV karaciğerde mitokondri üzerinden apoptozise neden olarak direk hepatosit hasarı yapmaktadır. ALR molekülünün ise karaciğer rejenerasyonunda hepatosit mitokondrisi üzerine etkileri mevcuttur. Diğer bir yandan ALR kupffer hücrelerindeki NK hücrelerini etkileyerek TNF-alfa, IL-6 ve nitrik oksit salınımına sebep olmakta ve natural killerin etkisinden hepatositleri korumaktadır. Aynı ayrı çalışmalarda karaciğer üzerine etkileri araştırılan CCHFV ve ALR molekülünü biz aynı çalışmada araştırarak, meydana gelen karaciğer hasarında ALR'nin ne gibi bir etkisi olabileceğini saptamayı amaçladık.

6. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Nisan-2013 ile Eylül-2014 tarihleri arasında KKKA hastalığı tanısıyla takip edilen erişkin erkek ve kadın hastalar arasından TC. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı'nın endemik bölgelerde olası vaka tanımına uyan ve aynı merkezde PCR yöntemiyle KKKA virüsü pozitif saptanan hastalar dahil edildi.

Bu çalışma için Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığından 07.05.2013 tarih ve 2013-05/14 sayılı karar ile izin alınmıştır. Çalışmaya KKKA tanısı alan, yatırılarak takip ve tedavisi yapılan 70 hasta alındı. Ayrıca kontrol grubu olarak sağlıklı kadın ve erkeklerden oluşan, herhangi bir şikayeti bulunmayan toplam 50 kişi seçilerek serumları ayrıldı ve -40°C' de muhafaza edildi.

Hastalardan alınan kan örneklerinde tespit edilen trombosit sayısı, INR, PTZ, fibrinojen ve D-Dimer, ALT, AST, LDH, yaş, beyaz küre sayısı gibi değerleri ve hepatomegali, kanama, organ yetmezliği gibi bulguları olmasına göre puanlanarak ciddiyet skorlaması belirlendi. Tespit edilen bu değerlerin yüksekliğine göre hastalığın ağırlığı tahmin edildi (54). Hastalar bu ciddiyet skorlamasına göre hafif, orta ve ağır olmak üzere 3 gruba ayrıldı.

6.1. Serum Örneklerinin Elde Edilmesi

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na Nisan-2013 ile Eylül-2014 tarihleri arasında KKKA hastalığı ön tanısı ile yatırılan erişkin kadın ve erkek hastalar kliniğe yatırılma tarihlerine göre sırayla kaydedildi. Hastalardan yatışta ve konvelesan fazda olmak üzere 2 defa kan örneği alındı. Alınan kanlar 15-20 dakika dinlendirildikten sonra santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Ayrılan serumlar eppendorf tüplerde -40 °C' de saklandı.

IL-7, ALR ve viral yük (CCHFV RNA) Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda çalışıldı.

6.2. PCR Yöntemiyle Viral Yük Tespiti

PCR yöntemiyle viral yükün tespit edilmesi için numaralandırılıp -40°C ' de saklanan hasta serumları çalışmadan önceki gün $+4^{\circ}\text{C}$ ' ye alındı. Tüm serum örnekleri testleri çalışmadan önce oda ısısına alındı.

6.2.1. Serumdan RNA İzolasyonu

Tüm işlemler test kiti prospektüsündeki uygulama talimatına göre yapıldı.

Kullanılan İzolasyon Cihazı: EZ1® Advanced İzolasyon robotu, QIAGEN

Kullanılan İzolasyon Kiti: RealStar® CCHFV RT-PCR Kit 1.0 Viral Nucleic Acid Extaction Kiti

1. Cihaz ile birlikte sağlanan EZ1 Advanced Virus Card v2.0 işletim protokol kartı cihaz kapalı konumda iken ön yüzdeki haznesine yerleştirildi.

2. EZ1 Virus Mini Kit v2.0 İzolasyon kit kutusu, depolandığı $15-25^{\circ}\text{C}$ sıcaklıktaki yerinden alınarak, kullanım için hazırlandı.

3. Carrier RNA, liyofilize halde olup kullanılmadan önce sulandırılması gerekmektedir. Bunun için, Elution Buffer'dan (mor kapaklı tüpte), Carrier RNA içeren (kırmızı kapaklı tüpte) tüp içerisine $310\ \mu\text{l}$ pipetlendi, kullanılacak kadar kısmı aliquot'lara ayrılıp, kalan kısmı -20°C ' de muhafaza edilmek üzere kaldırıldı.

4. Daha sonra, Elution Buffer' dan $50\ \mu\text{l}$, hazırlanan RNA stok solüsyondan (Kırmızı Kapaklı) $3,8\ \mu\text{l}$ ve Internal Kontrol'den (yeşil kapaklı) $6\ \mu\text{l}$, carrier RNA' dan $4\ \mu\text{l}$; $1,5\ \text{ml}$ ' lik tüpler içerisine dağıtılarak her bir örnek için karışım hazırlandı.

5. Kit kartuşlarından çalışılacak örnek sayısı kadar çıkartılıp, kartuşun arka kısmındaki boş pozisyona $2\ \text{ml}$ ' lik boş tüp yerleştirildi.

6. Kartuş rack' ındaki uygun pozisyonlara, rack üzerindeki yerlerine itilerek yerleştirildi.

7. Daha sonra, örnekler ile diğer bileşenlerin yüklendiği çalışma rack'ının yüklenmesine başlandı. Çalışma rack' ı, cihaz içerisinden çıkarılarak örnek sayısı kadar kolon aşağıdaki şekilde yüklenip, hazırlandı.

6 örnek ile çalışılacağı varsayımına göre;

· Çalışma rack' ının A-1 (B-1, C-1, D-1, E-1 ve F-1) pozisyonuna; $1,5\ \text{ml}$ ' lik boş tüp yerleştirildi.

· A-2 (B-2, C-2, D-2, E-2 ve F-2) pozisyonuna; pipet uçları ve uçları tutan haznelere yerleştirildi.

· A-3 (B-3, C-3, D-3, E-3 ve F-3) pozisyonuna; 60' ar µl hazırlanılan C-RNA+Elution Buffer (AVE) ve Internal Control (IC) karışımını içeren 1,5 ml' lik tüpler yerleştirildi.

· A-4 (B-4, C-4, D-4, E-4 ve F-4) pozisyonuna; 400 µl' lik serum veya plazma örneği içeren 2 ml' lik tüpler yerleştirildi.

8. Hazırlanılan Kartuş Rack'ı ve Çalışma Rack'ı cihaz içerisindeki uygun pozisyonlara yerleştirilerek, çalışma alanının kapağı kapatıldı.

9. Çalışma cihazda 45 dakikada tamamlandı.

6.2.2. Real Time PCR Reaksiyonu

Kullanılan cihaz: Rotor-Gene 6000 Rotor-Gene Q 5/6 cihazı

Kullanılan Kit: Real Star® CCHFV RT-PCR Kit 1.0 Viral Nucleic Acid Extaction Kiti

6.2.2.1. Çalışma Prensipleri

Real-Time PCR sisteminde kullanılan bu kit ile hasta serumundaki CCHFV RNA miktarı hızlı ve hassas biçimde saptandı. Pratik kullanımı nedeniyle kontaminasyon riski en aza indirildi. PCR sonrası analizlere gerek duyulmadan sonuçlar anında alındı.

6.2.2.2. Çalışma Protokolü

Serumdan total nükleik asitler izole edildi. CCHFV genomunun 140 baz çifti uzunluğundaki bölgesi, real-time PCR cihazında çoğaltıldı. PCR ürünü, floresan bir boya olan SYBR-green aracılığıyla reaksiyon sırasında görüntülendi. Floresan miktarındaki artış, oluşan PCR ürün miktarı ile doğru orantılı olup real-time PCR cihazı tarafından gerçek zamanlı olarak ölçüldü. RNA' ya bağlı SYBR Green I' in yaydığı floresans PCR ürünü biriktikçe artar; sinyalin arka plan seviyesinin üzerine çıktığı ve ayırdedilebilir hale geldiği noktaya eşik döngüsü (threshold cycle; CT) adı verilir. Başlangıç miktarının logaritması ile eşik döngüsü arasında doğrusal bir ilişki vardır. Buna bağlı olarak, virüs miktarı bilinmeyen örnekler başlangıç miktarı belirli standartlar aracılığı ile oluşturulan standart eğri yardımı ile kantite edildi.

1. Reaksiyon sırasında, reverse transcription ve PCR aynı tüp içinde gerçekleştirildi.

2. Her iki aşama için gereken reaktifler reaksiyonun başında tüpe koyuldu ve böylece revers transkripsiyon bittikten sonra tüpü açmak ve pipetleme yapmak gerekmedi.

3. Enzim termal protokolün başına eklenmiş olan 95°C’ de 15 dakikalık bir inkübasyon sonrasında aktif hale getirildi. Bu inkübasyon aynı zamanda revers transkriptaz enzimlerini de inaktive eder ve böylece revers transkripsiyon ve PCR’ ın zamansal olarak birbirinden ayrılması ve iki aşamanın aynı tüpte gerçekleşmesi sağlanmış oldu.

4. Oluşan spesifik ürünün erime eğrisi analizi yapıldı. İkili sarmal yapıdaki RNA molekülünden iplikcikler birbirinden ayrıldı.

5. Erime sıcaklığını büyük ölçüde baz dizisi belirlediğinden farklı dizilere sahip RNA moleküllerinin Tm değerleri birbirinden farklıdır. Erime eğrisi analizinde, ikili sarmal RNA örneğinin sıcaklığı yavaş yavaş artırılarak floresan sinyalin sıcaklığa bağlı değişimini gösteren bir grafik oluşturuldu.

6. İplikçikliklerin birbirlerinden ayrılmaları sinyalin ani düşüşünden kaynaklanan tepecikler aracılığıyla gözlemlendi. Erime eğrisi analizi hem kantitatif, hem de kalitatif analizlerde kullanılır.

7. SYBR Green I gibi seçici olmayan boyalar, çoğaltılması hedeflenen bölge yerine non-spesifik PCR ürünlerine ya da sıklıkla rastlanan primer dimerlerine de bağlanır. Bu farklı RNA moleküllerinin Tm’ leri de birbirlerinden farklıdır ve erime eğrisinde farklı sıcaklıklarda tepecikler oluşur. Böylece erime eğrisi analizi, çoğalan RNA’ nın hedef bölge olduğunu kesinleştirir.

8. Her örnek için amplifikasyonun ilk görüldüğü döngü, “döngü eşik değeri” (cycle threshold) olarak belirlendi.

9. Kite kullanılan materyallerden her biri, nükleik asit kontaminasyonu olasılığına karşı test edildi.

10. Aşağıdaki miktarlar 1 reaksiyon için geçerlidir. Bu miktarları örnek adedimiz ile çarparak ana karışıma koyacağımız miktarlar hesaplandı. Temiz bir tüpte hazırlanan ana karışım mikropipetle karıştırılarak PCR tüplerine bölüştürüldü ve üzerlerine RNA örnekleri pipet ile ilave edildi.

6.2.2.3. PCR' in Hazırlanması

1. Her çalışmaya örneklerin yanı sıra pozitif kontrol ve negatif kontrol dahil edildi.
2. Aşağıdaki miktarlar 1 reaksiyon için geçerli kabul edildi. Yani bir örnek için kit içerisinde çıkan master A' dan 5 ml, master B' den 10 ml konuldu.
3. Bu miktarları örnek adedi ile çarparak ana karışıma koyulacak toplam miktar hesaplandı.
4. Temiz bir 1,5 ml' lik eppendorf tüpte hazırlanan bu ana karışım mikropipetle karıştırılarak PCR tüplerine bölüştürüldü.
5. Üzerlerine 5 µl DNA örnekleri pipetle ilave edildi.
6. Ardından tüpler (örnekler, pozitif kontrol ve negatif kontrol) cihaza yüklendi, tanımlamalar yapıldı ve termal döngü seçilerek program başlatıldı.
7. Real-Time PCR verileri, amplifikasyon döngüsünün üçüncü aşamasında toplandı.
8. Kantitasyon standart curve format kullanılarak yapıldı.

6.2.2.4. Veri Analizi

Termal protokol sona erince, QIAGEN Deteksiyon Sistemi yazılımı baseline döngülerini ve eşiği otomatik olarak hesaplandı. Eşik, tüm örneklerin baseline döngülerinin üzerindeki standart sapmasının 10 katı olarak hesaplandı ve standart eğri mümkün olan en yüksek korelasyon katsayısına sahip olacak şekilde ayarlandı. Standart eğri (Eşik Döngüsü-Log Başlangıç Miktarı) tanımlanmış standartlardan elde edilen veriler kullanılarak oluşturuldu. Reaksiyon sona erdikten sonra her örnek için erime eğrisi (Melt Curve) analizi yapıldı.

6.3. ELISA Yöntemiyle ALR Tespiti

ELISA yöntemiyle yapılan çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarında yapıldı. Öncelikle -80°C 'de saklanan serum örnekleri işlemde önce oda sıcaklığında eritildi. Eastbiopharm İNSAN ALR ELISA KİT isimli ticari kitlerinin çalışma rehberinde belirtildiği gibi oda ısısında erimeleri sağlandı. Bundan sonraki tüm çalışma adımları ismi anılan rehberde belirtildiği şekilde yapıldı. ALR seviyesinin saptanmasında kit çift antikor sandviç enzime bağlı immunosorbent deneyi (ELISA) kullanılmaktadır.

6.3.1. Çalışma Yöntemi

Kullanılan Cihazın adı: Grifols Triturus mikroelisa cihazı

Kullanılan kitin adı: Eastbiopharm ALR ELISA KİT

1. Hasta serumları ve kontrol serumları çalışma rock'ına yerleştirildi.
2. Orjinal standart reaktif, standart seyreltici ile 0,4 ng/ml' ye kadar dilüe edildi. Dilüsyon yapılan 5 tüp cihaza yerleştirildi.
3. Micro elisa strip plate cihaza yerleştirildi.
4. Standart solüsyondan 50 µl tüm örneklere dağıtıldı.
5. Standart kuyucuklara 50 µl standart ve 50 µl Streptavidin-HRP eklendi.
6. Test kuyucuklarına 40 µl örnek serum, 10 µl İnsan ALR antikoru ve 50 µl Streptavidin-HRP eklendi. 37°C' de 60 dakika inkübe edildi.
7. Bekleme esnasında 30X yıkama tamponu distile su ile seyreltildi.
8. İnkübasyondan sonra 5 defa yıkama işlemi yapıldı.
9. Her bir kuyucuğa kromojen solüsyon A'dan 50 µl; ardından da kromojen solüsyon B' den 50 µl eklendi. 37°C' de 10 dakika inkübe edildi.
10. Reaksiyonu durdurmak için her bir kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi (mavi ren sarıya dönüştü).
11. 450 ve 620 dalga boyunda örneklerin optik yoğunluğu hesaplandı.

6.4. ELISA Yöntemiyle IL-7 Tespiti

ELISA yöntemiyle yapılan çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarında yapıldı. Öncelikle -80°C' de saklanan serum örnekleri işlemde önce oda sıcaklığında eritildi. Eastbiopharm İNSAN IL-7 ELISA KİT isimli ticari kitlerinin çalışma rehberinde belirtildiği gibi oda ısısında erimeleri sağlandı. Bundan sonraki tüm çalışma adımları ismi anılan rehberde belirtildiği şekilde yapıldı. IL-7 seviyesinin saptanmasında kit çift antikor sandviç enzime bağlı immunosorbent deneyi (ELISA) kullanılmaktadır.

6.4.1. Çalışma Yöntemi

Kullanılan Cihazın adı: Grifols Triturus mikroelisa cihazı

Kullanılan kitin adı: Eastbiopharm IL-7 ELISA KİT

1. Hasta serumları ve kontrol serumları çalışma rock'ına yerleştirildi.
2. Orjinal standart reaktif, standart seyreltici ile 15 ng/ml' ye kadar dilüe edildi (180-120-60-30-15). Dilüsyon yapılan 5 tüp cihaza yerleştirildi.

3. Micro elisa strip plate cihaza yerleştirildi.
4. 40 µl sample dilüsyon tüm örnekler dağıtıldı. 37⁰C’de 30 dakika inkübe edildi.
5. Bekleme esnasında 30X yıkama tamponu distile su ile seyreltildi.
6. İnkübasyondan sonra 5 defa yıkama işlemi yapıldı.
7. IL-7 HRP-konjugattan 50 µl her bir kuyucuğa koyuldu. 37⁰C’de 30 dakika inkübe edildi.
8. Her bir kuyucuğa kromojen solüsyon A’dan 50 µl; ardından da kromojen solüsyon B’den 50 µl eklendi. 37⁰C’de 10 dakika inkübe edildi.
9. Reaksiyonu durdurmak için her bir kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi (mavi renk sarıya dönüştü).
10. 450 ve 620 dalga boyunda örneklerin optik yoğunluğu hesaplandı.

6.5. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızın verileri Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) Versiyon 22.0 istatistiksel paket programına yüklenerek, verilerin değerlendirilmesinde; parametrik test, varsayımlar yerine getirildiğinde (Kolmogorof-Simimov) iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi, parametrik test varsayımları yerine getiremediğinde Man Whitney U testi ve Wilcoxon testi kullanıldı. Ayrıca korelasyon analizine ROC analizi uygulanarak yanılma düzeyi $\alpha=0,05$ olarak alındı.

7. BULGULAR

Bu çalışma, Nisan-2013 ile Eylül-2014 tarihleri arasında Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilimdalı' na başvuran, TC. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı' nın endemik bölgelerde KKKA olası vaka tanımına uyan, aynı merkezde PCR yöntemiyle KKKA virüsü pozitif olarak saptanan, yatırılarak takip ve tedavi edilen 70 hastayla yapıldı. Hastaların yaşı ve hastalardan alınan kan örneklerinde tespit edilen trombosit sayısı, INR, PTZ, fibrinojen ve D-Dimer, ALT, AST, LDH, yaş, beyaz küre sayısı gibi değerleri ile hepatomegali, kanama, organ yetmezliği gibi bulguları olmasına göre puanlanarak ciddiyet skorlaması belirlendi. Tespit edilen bu değerlerin yüksekliğine göre hastalığın ağırlığı tahmin edildi (53, 54). Hastalar bu ciddiyet skorlamasına göre hafif, orta ve ağır olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Hafif gruptan 26, orta gruptan 25, ağır gruptan ise 19 hasta çalışmaya dahil edildi. Herhangi bir hastalığı olmayan 50 erişkin sağlıklı birey kontrol grubunu oluşturdu.

Hastalardan yatışlarında (akut faz) ve konvelesan fazda olmak üzere 2 defa serum örneği alındı. Alınan hasta serumlarından viral yük, ALR ve IL-7, sağlıklı kontrol grubu serum örneklerinden ise ALR ve IL-7 düzeyleri çalışıldı.

Çalışmaya dahil edilen hasta bireylerin ortalama yaşı 51.22 ± 16.86 yıl iken, kontrol grubundaki bireylerin ortalama yaşı 51.34 ± 14.33 yıl olarak bulundu. Yaş yönünden gruplar arası farklılık önemsiz idi ($t=0,03$; $p=0,970$; $p>0,05$).

Hasta grubundaki bireylerin 29' u (% 41.4) kadın, 41' i (% 58.6) erkek iken; kontrol grubundaki bireylerin 25' i (%50) kadın, 25' i (%50) erkek idi. Cinsiyet yönünden gruplar arası farklılık önemsiz idi ($\chi^2=0,86$, $p=0,352$; $p>0,05$).

Hastaların ilk başvuru anında alınan serum örneklerinde ve kontrol grubundaki bireylerin serum örneklerinde IL-7 düzeyleri kıyaslandığında aradaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p=0,441$, $p>0,05$) (Tablo 7.1).

Hastaların ilk başvuru anında alınan serum ALR düzeyleri kontrol grubundaki sağlıklı bireylerin serum ALR düzeyleri ile kıyaslandığında; hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p=0,003$; $p<0,05$) (Tablo 7.1).

Tablo 7.1: Çalışmaya alınan hastaların ilk başvuru anında alınan serum örneklerinde ve kontrol grubundaki bireylerin serum örneklerinde bakılan ALR ve IL-7 düzeylerinin karşılaştırılması

Akut	Hasta (n=70)	Kontrol(n=50)	Sonuç
IL-7 (ng/ml)	16,30±7,05	17,43±8,76	t=0,77 p=0,441
ALR (ng/ml)	1,38±1,96	0,97±1,58	p=0,003*

Yaşayan ve ölen bireylerin ilk başvuru anında alınan serum örneklerinde bakılan ALR ve IL-7 düzeyleri karşılaştırıldığında farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$) (Tablo 7. 2).

Tablo 7. 2: Yaşayan ve ölen hastaların ALR ve IL-7 serum düzeylerinin kıyaslanması

Akut	Ölen (n=10)	Yaşayan(n=60)	Sonuç
ALR (ng/ml)	0,67±0,33	1,50±2,10	p=0,314
IL-7 (ng/ml)	15,89±0,45	16,37±7,56	p=0,106

Hastalardan ilk başvuru anında bakılan ALR ve IL-7 serum düzeyi ile hastaların ciddiyet skorlaması kıyaslandığında, aradaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($p>0,05$) (Tablo 7. 3).

Tablo 7. 3: Hastaların ciddiyet skorları ile ilk başvuru anındaki ALR ve IL-7 düzeylerinin kıyaslanması

Ciddiyet düzeyi (akut)	ALR (İlk başvuru anında)	IL-7 (İlk başvuru anında)
Hafif (n=26)	1,71±2,51 (ng/ml)	17,47±11,33 (ng/ml)
Orta (n=25)	1,28±1,65 (ng/ml)	15,42±2,10 (ng/ml)
Ağır (n=19)	1,05±1,46 (ng/ml)	15,85±0,61 (ng/ml)
Sonuç	Kw=0,89 p=0,638	Kw=3,81 p=0,149

İyileşme dönemindeki hastaların serum örneklerindeki ALR ve IL-7 düzeyleri hastaların aldıkları ciddiyet skoruna göre karşılaştırıldıklarında aradaki fark istatistiksel olarak önemsiz idi ($p>0,05$) (Tablo 7. 4).

Tablo 7. 4: İyileşme dönemindeki hastaların serum örneklerindeki ALR ve IL-7 düzeyleri hastaların aldıkları ciddiye skoruna göre karşılaştırılması

Ciddiyet (konvelesan)	ALR (konvelesan)	IL-7 (konvelesan)
Hafif (n=38)	1,31±1,82 (ng/ml)	15,87±7,78 (ng/ml)
Orta ve ağır (n=32)	1,18±1,44 (ng/ml)	15,28±2,59 (ng/ml)
Sonuç	p=0,776	t=0,32 p=0,743

Hastalardan ilk başvuru anında alınan kan örneklerinden bakılan ALT, AST, LDH, lökosit, trombosit, INR, PT, aPTT ve D-dimer değerleri ile akut faz ALR düzeyleri arasındaki ilişkiye bakıldığında; ALR düzeyleri ile AST, ALT, LDH, INR, PTZ, aPTT ve D-dimer değerleri arasında negatif yönlü bir ilişki bulunmuştur. Bu ilişki istatistiksel olarak anlamsız ve değeri düşüktür (Tablo 7.5).

Hastalardan ilk başvuru anında alınan serum örneklerinden bakılan ALR düzeyi ile lökosit sayısı arasında aynı yönlü bir ilişki bulunmuştur (r=0,09). İlk başvuru anında bakılan ALR düzeyleri ile trombosit sayısı arasında da aynı yönlü bir ilişki bulunmuştur (r=0,24). Lökosit ve trombosit için bulunan bu ilişki katsayıları istatistiksel olarak önemsiz ve çok küçüktür (Tablo 7. 5).

Hastalardan ilk başvuru anında alınan kan örneklerinden bakılan ALT, AST, LDH, lökosit, trombosit, INR, PT, aPTT ve D-dimer değerleri ile IL-7 düzeyleri arasındaki ilişkiye bakıldığında; IL-7 ile AST, ALT, LDH, aPTT ve D-dimer arasında negatif yönlü bir ilişki bulunmuştur. Bu ilişki istatistiksel olarak çok küçük ve anlamsızdır. IL-7 düzeyleri ile lökosit, trombosit, INR ve PTZ arasında aynı yönlü ilişki olup bulunan ilişki katsayıları istatistiksel olarak önemsiz ve çok küçüktür (Tablo 7. 5).

Tablo 7. 5: Hastaların ilk başvuru anındaki laboratuvar parametreleri ile ALR ve IL-7 düzeyleri arasındaki korelasyonun değerlendirilmesi

		AST	ALT	LDH	Lökosit	Trombosit	INR	PTZ	aPTT	D-dimer
ALR	r	-0,04	-0,05	-0,02	0,09	0,24	-0,05	-0,04	-0,10	-0,09
	p	0,716	0,663	0,890	0,417	0,644	0,644	0,702	0,389	0,437
IL-7	r	-0,006	-0,009	-0,01	0,005	0,167	0,045	0,054	-0,04	-0,022
	p	0,962	0,945	0,906	0,967	0,170	0,714	0,661	0,747	0,857

Hastalardan iyileşme dönemlerinde alınan kan örneklerinde çalışılan AST, ALT, LDH, lökosit, trombosit, INR, PTZ, aPTT ve D-dimer değerleri ile ALR düzeyleri arasındaki ilişkiye bakıldığında; ALT, AST, LDH ve trombosit değerleri ile aynı yönlü bir ilişki bulunmuştur. Ancak bu ilişki istatistiksel olarak önemsizdir (Tablo 7.6). ALR düzeyleri ile lökosit, INR, PTZ, aPTT ve D-dimer arasında negatif yönlü bir ilişki mevcuttur. Ancak bu negatif yönlü ilişki istatistiksel olarak çok küçük ve anlamsızdır (Tablo 7. 6).

Hastalardan iyileşme dönemlerinde alınan kan örneklerinde çalışılan AST, ALT, LDH, lökosit, trombosit, INR, PTZ, aPTT ve D-dimer değerleri ile IL-7 düzeyleri arasındaki ilişkiye bakıldığında; IL-7 ile ALT, AST, LDH, INR, PTZ, aPTT arasında aynı yönlü bir ilişki mevcuttur. Ancak bu ilişki istatistiksel olarak önemsizdir. IL-7 ile lökosit, trombosit ve D-dimer arasında negatif yönlü bir ilişki mevcut olmasına karşın bu negatif yönlü ilişki istatistiksel olarak çok küçük ve anlamsızdır (Tablo 7. 6).

Tablo 7. 6: Hastaların iyileşme dönemindeki laboratuvar parametreleri ile ALR ve IL-7 düzeyleri arasındaki korelasyonun değerlendirilmesi

		AST	ALT	LDH	Lökosit	Trombosit	INR	PTZ	aPTT	D-dimer
ALR	r	0,01	0,03	0,11	-0,12	0,12	-0,04	-0,05	-0,03	-0,13
	p	0,890	0,777	0,38	0,364	0,351	-0,740	0,731	0,802	0,301
IL-7	r	0,03	0,008	0,01	-0,18	-0,12	0,03	0,007	0,11	-0,012
	p	0,779	0,955	0,877	0,16	0,37	0,808	0,960	0,396	0,837

Hastaların ilk geliş ve iyileşme dönemlerindeki ALR ve IL-7 değerlerinin yaş ve cinsiyetle ilişkisinin bulunmadığı saptanmıştır (Tablo 7. 7).

Tablo 7. 7: Yaş ve cinsiyetle ALR ve IL-7 düzeylerinin kıyaslanması

Hasta özelliği	IL-7 akut (ng/ml)	IL-7 konvelesan (ng/ml)	ALR akut (ng/ml)	ALR konvelesan (ng/ml)
Yaş	r	0,009	-0,01	-0,08
	p	0,948	0,862	0,540
Cinsiyet				
Kadın(n=29)	16,93±10,79	15,77±8,76	1,31±1,98	1,27±1,78
Erkek(n=41)	15,85±1,57	15,59±3,35	1,43±1,98	1,25±1,61
Sonuç	p=0,082	p=0,321	p=0,346	p=0,562

Hastaların ilk başvuru anındaki ALR düzeyleri ile ağırlık skorları arasındaki ilişkiye bakıldığında; akut fazdaki ağırlık skorları ile ALR düzeyleri arasında negatif yönlü bir ilişki bulunmuştur ($r=-0,16$). Ancak bu ilişki istatistiksel olarak önemsizdir.

Hastaların ilk başvuru anındaki IL-7 düzeyleri ile ağırlık skorları arasındaki ilişkiye bakıldığında; ağırlık skorları ile IL-7 düzeyleri arasında aynı yönlü bir ilişki bulunmuştur ($r=0,21$). Ağırlık skoru arttıkça IL-7 artmaktadır ancak istatistiksel olarak önemsizdir.

Hastaların ilk başvuru anındaki viral yükleri ile ALR düzeyleri arasındaki ilişkiye bakıldığında; viral yük ile ALR düzeyleri arasında negatif yönlü bir ilişki bulunmuştur ancak istatistiksel olarak önemsizdir ($r= -0,06$).

Hastaların ilk başvuru anındaki viral yükleri ile IL-7 düzeyleri arasındaki ilişkiye bakıldığında; viral yük ile IL-7 arasında negatif yönlü bir ilişki bulunmuştur ($r= -0,03$) ancak istatistiksel olarak önemsizdir.

Ölen ve yaşayan hastaların ilk başvuru anında bakılan viral yükleri kıyaslandığında; ölen hastalarda viral yükün daha yüksek olduğu bulunmuştur ($p=0,003$) (Tablo 7.8).

Tablo 7. 8: Mortaliteyle viral yük değerlerinin kıyaslanması

Viral yük(kopya/ml)	Ölen hasta (n=10)	Yaşayan hasta (n=60)	Sonuç
Akut	1381600,20±146371,6	420720,71±93375,0	p=0,003*
konv.	249097,0 (n=1)	3850,14±13132,19	

Hastalardan ilk başvuru anı ve konvelasan dönem serum ALR düzeyleri kıyaslandığında, ilk başvuru anında bakılan ALR düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu bulunmuştur (p=0,009) (Tablo 7. 9).

Tablo 7. 9: KKKA hastalarında ilk başvuru anında ve konvelasan dönemde bakılan serum ALR düzeylerinin kıyaslanması

ALR	Düzy (ng/ml)
akut	1,52±2,13
konvelasan	1,26±1,67
Sonuç	p=0,009*

Hastalardan ilk başvuru anında ve konvelasan dönemlerinde alınan serum örneklerinde bakılan IL-7 düzeyleri kıyaslandığında, fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (Tablo 7.10).

Tablo 7.10: KKKA hastalarında ilk başvuru anında ve konvelasan dönemde alınan serum örneklerinde IL-7 düzeylerinin kıyaslanması

IL-7	Düzy (ng/ml)
akut	16,40±7,69
konvelasan	15,67 ±6,37
Sonuç	p=0,126

Başvuru anında alınan serum örneklerinde bakılan ALR düzeyi ile mortalite arasındaki ilişkiyi araştırmak için ROC analizi yapıldığında eğri altında kalan alanın büyüklüğü 0,400 olarak tespit edilmiş (p=0.314, güven aralığı 0.25-0.55) ve istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Başvuru anında alınan serum örneklerinde bakılan IL-7 düzeyi ile mortalite arasındaki ilişkiyi araştırmak için ROC analizi yapıldığında eğri altında kalan alanın

büyüklüğü 0,668 olarak tespit edilmiş ($p=0.107$, güven aralığı 0,517-0,819) ve istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Akut fazda bakılan ALR değeri ile orta ciddiye skorunda ROC analizi yapıldığında eğri altında kalan alanın büyüklüğü 0,512 olarak tespit edilmiş ($p=0,873$, güven aralığı 0,370-0,653) ve istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Akut fazda bakılan ALR düzeyi ile ağır ciddiye skorunda ROC analizi yapıldığında eğri altında kalan alanın büyüklüğü 0,429 olarak tespit edilmiş ($p=0,366$, güven aralığı 0,274-0,584) ve istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Akut fazda bakılan IL-7 düzeyi ile orta ciddiye skorunda ROC analizi yapıldığında eğri altında kalan alanın büyüklüğü 0,479 olarak tespit edilmiş ($p=0,769$ güven aralığı 0,340-0,618) ve istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Akut fazda bakılan IL-7 değeri ile ağır ciddiye skorunda ROC analizi yapıldığında eğri altında kalan alanın büyüklüğü 0,648 olarak tespit edilmiş ($p=0,064$ güven aralığı 0,515- 0,780) ve istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Konvelesan fazda bakılan ALR ile orta ciddiye skorunda ROC analizi yapıldığında; eğri altında kalan alanın büyüklüğü 0,457 olarak tespit edilmiş ($p=0,558$ güven aralığı 0,298-0,616) ve istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Konvelesan fazda bakılan ALR ile ağır ciddiye skorunda ROC analizi yapıldığında; eğri altında kalan alanın büyüklüğü 0,472 olarak tespit edilmiş ($p=0,722$ güven aralığı 0,322-0,622) ve istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Konvelesan fazda bakılan IL-7 ile orta ciddiye skorunda ROC analizi yapıldığında; eğri altında kalan alanın büyüklüğü 0,535 olarak tespit edilmiş ($p=0,665$ güven aralığı 0,381-0,688) ve istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Hasta ile kontrol grubu arasında karşılaştırılan ALR akut değeri için ROC analizi yapıldığında kesim noktası 0,42 olarak bulunmuştur. Ancak bu istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

8. TARTIŞMA

KKKA, VKA olarak tanımlanan bir grup hastalık içerisinde yer alan ateş, kanama ve karaciğer fonksiyon bozukluğu ile karakterize akut bir enfeksiyon hastalığıdır. Afrika, Asya, Doğu Avrupa ve Orta Doğu dahil olmak üzere birçok ülkede yaygın olarak bulunan bir zoonotik enfeksiyondur (9).

Ülkemizde ilk kez 2003 yılında hastalığın varlığı kanıtlanmıştır. Sağlık Bakanlığı verilerine göre ülkemizde 2002 ile 2014 yılları arasında 9062 olgu saptanmış, 420 olgu ölüm ile sonuçlanmıştır. 2002 ile 2014 yılları arasında Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi'nde 1458 olgu tanı almış; 107 kadarı ölümlerle sonuçlanmıştır (12).

KKKA enfeksiyonu ağır seyreden bazı vakalarda ölümcül seyredebilen bir hastalıktır. KKKA enfeksiyonunun klinik seyri ve sonuçları infekte olan bireyler arasında farklılık gösterebilmektedir. Bazı hastalarda tablonun ağır seyretmesine karşın, diğer bazı hastalarda ise sadece hafif bir enfeksiyon şeklinde seyretmesinin nedeni tam olarak saptanamamıştır. Bu durum birçok nedene bağlı olabilir. Örneğin bunlardan birinin TLR'lerdeki mutasyonların olabileceği düşünülmektedir. TLR'indeki mutasyonların KKKA hastalığının ağır seyretmesine katkıda bulunması muhtemeldir (13).

KKKA hastalarında mortalite oranı farklı yayınlarda çok değişik rakamlarla ifade edilmektedir. Ölüm oranları %8-80 arasında değişmektedir (122). Bizim bölgemizdeki hastalarda Bakır ve arkadaşları (21)'nin 2003 yılında yapmış oldukları çalışmada mortalite oranı %12 olarak tespit edilmiştir. KKKA hastalığında ölüm genellikle hastalığın ikinci haftasında olmaktadır. Bu dönemde trombositopeni en derin seviyelerine ulaşmakta, ALT ve AST pik yapmakta, kanamalar en çok bu dönemde görülmektedir. Yaşayan olgularda hastalığın 7-8'nci günlerinde kan seviyesi yükselmeye başlayan nötralizan antikorların virüsü nötralize etmesiyle trombosit sayıları hızla yükselmekte, transaminazlar düşmekte, hastalık belirtileri düzelmekte ve hasta hızla iyileşmektedir. KKKA'nın özgül antiviral tedavisi hakkında özellikle son yıllarda artan sayıda klinik çalışmalar olmasına rağmen günümüzde halâ hastalığın etkin ve özgül bir antiviral tedavisi yoktur. Diğer çoğu VKA'larda olduğu gibi KKKA'da da ana tedavi yöntemi destek tedavisidir (3).

KKKA virüsü birçok hücre tipini enfekte edebilme yeteneğine sahiptir. Ölen vakalardan ve deneysel olarak enfekte edilmiş primatlardan alınan dokuların immünohistokimyasal ve insitu hibridizasyon analizleri sonucunda, dendritik hücre, monosit ve makrofaj, endotel, hepatosit ve adrenal korteks hücrelerinde virüsün replike olduğu gösterilmiştir (38, 43). KKKA hastalığında virüsün esas hedefini endotel hücreleri, monosit ve hepatositler oluşturmaktadır (44).

Sitokinler lenfoid hücrelerin ve diğer bazı hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşmalarını sağlama, immun yanıtı şiddetlendirme ya da baskılama şeklinde düzenleme, inflamasyona katılan hücreleri aktive etme ve inflamasyon alanına toplama gibi biyolojik etkiler gösterirler. Ateş, akut faz yanıtı, antiviral etkinlik, kemotaksis yaptıkları biyolojik etkilerden bazılarıdır (79). Viral kanamalı ateş infeksiyonlarında IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, MCP 1, RANTES, TNF α ve NO'yu içeren bir grup inflamatuvar mediatörün ekspresyonu tetiklenmektedir. Bu mediatörlerin virüslerce indüklenmiş ekspresyonları hastalığın ilerlemesine katkıda bulunan immünolojik dengesizlikle sonuçlanır (7). Daha önce KKKA hastalarında IL-6, IL-10, IL-12 ve TNF- α gibi sitokinlerin düzeyi araştırılmış ve bu sitokinlerin ölen hastalarda yaşayanlara göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır (87).

Bu çalışmada yöremizde endemik olarak görülen, ağır seyredabilen ve bazı olgularda da ölümle sonuçlanabilen KKKA'lı hastaların serum örneklerinde ALR, IL-7 ve viral yük seviyelerini belirlemeyi ve ALR ve IL-7 değerlerinin viral yük, hastalığın şiddeti ve mortalite ile ilişkisinin olup olmadığını tespit etmeyi amaçladık. KKKA olgularının hafif, orta ya da ağır seyretmelerinin nedenleri kesin olarak bilinmemekle birlikte genetik farklılıklar, viral yük, virüsün alınış yolu ve altta yatan hastalıklar gibi değişik faktörler ileri sürülmüştür (34, 36).

Çalışmaya alınan KKKA hastalarının ağır, orta ya da hafif grup olup olmadığı daha önce belirtildiği gibi Bakır ve arkadaşlarının ağırlık skoru kriterlerine göre belirlenmiştir (54). Buna göre çalışmaya dahil edilen hastaların 19' u ağır grupta, 25' i orta grupta ve 26' sı ise hafif grupta yer almakta idi. Herhangi bir hastalığı olmayan sağlıklı 50 erişkin birey kontrol grubunu oluşturdu. Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol grubundaki bireylerin hiçbirinde hepatit, karaciğer yetmezliği, hepatosellüler kanser gibi karaciğerle ilişkili olabilecek hastalıklar yoktu.

Çalışmaya dahil edilen hasta bireylerin ortalama yaşı 51.22 ± 16.86 yıl iken; kontrol grubundaki bireylerin ortalama yaşı 51.34 ± 14.33 yıl olarak bulundu. Yaş yönünden gruplar arası farklılık önemsiz idi ($t=0,03$; $p=0,970$; $p>0,05$).

Hasta grubundaki bireylerin 29' u (% 41.4) kadın, 41' i (% 58.6) erkek iken; kontrol grubundaki bireylerin 25' i (%50) kadın, 25' i (%50) erkek idi. Cinsiyet yönünden gruplar arası farklılık önemsiz idi ($\chi^2=0,86$; $p=0,352$; $p>0,05$).

KKKA hastalığında viral yük yükseldikçe hepatositlerde hasar oranı artmaktadır. Viral yük mortalite habercisi, hastalığın patogenezi ve karaciğer hasarının derecesini göstermesi bakımından önemlidir. Ayrıca farelerle yapılan in vivo deneylerde CCHFV' nün karaciğer hücreleri içerisinde çoğalabildiği gösterilmiştir (110, 109). Yine çalışmalarda enfeksiyonun 48. saatinde virüsün karaciğer dokusunda yeterli miktarda bulunduğu gözlenmiştir. Viral replikasyonun hepatositlerde apoptozis gelişmesine neden olduğu saptanmıştır (65). ALR son yıllarda gündeme gelen bir moleküldür. 'Karaciğer koruyucu molekül, hepatopoetin' gibi adlarla anılmaktadır. Karaciğer hasarında düzeyi artmakta ve karaciğer iyileşmesinde rol oynamaktadır. Karaciğer hasarı yapan bazı hastalıklarda düzeyi çalışılmış, iyileşme dönemlerinde yüksek bulunmuştur (5). İlginç bir şekilde, intrasellüler ALR'nin azalması mitokondrial fonksiyonlarda hızlı bozulmalara ve hepatositlerde apoptotik/nekrotik hücre ölümüne neden olmaktadır. Bu nedenle ALR karaciğer hücreleri için bir sağ kalım faktörü olarak anılmaktadır. Hayvan deneylerinde kısmi hepatektomi sonrası ALR molekülünün karaciğer rejenerasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (120). Ayrıca ALR' nin hayvan modellerinde portokaval şant cerrahisine bağlı olarak meydana gelen patolojileri önlediği gösterilmiştir (120). Yapılan bir diğer çalışmada hepatosellüler kanser, kronik hepatit, karaciğer yetmezliği gibi karaciğer hasarı yapan hastalıklarda ALR düzeyleri çalışılmış, rejenerasyon varlığında ALR molekülünün düzeyinin yükseldiği gösterilmiştir. ALR karaciğerde sadece hepatositler tarafından üretilmekte ve salgılanmaktadır (5).

Kırım Kongo Kanamalı Ateş Hastalığı Virüsü hepatosit hasarı yaparak karaciğer fonksiyon bozukluğu oluşturmaktadır (6). Yapılan bir çalışmada Kırım Kongo Kanamalı Ateş Hastalığı olan farelerde immunohistokimyasal olarak değişik dokulardaki virüs miktarları karşılaştırılmış, karaciğerde diğer organlardan fazla

virüs yükü saptanmıştır. Bu çalışmada enfekte karaciğer histokimyasal olarak incelendiğinde nekroz ve apoptozisin gözleendiği bir akut hepatit tablosu olduğu görülmüştür (65). Ancak bugüne kadar literatürde Kırım Kongo Kanamalı Ateş Hastalığı veya diğer VKA hastalıklarının herhangi birinde karaciğerde rejenerasyonu artıran ALR molekülünün düzeyi çalışılmamıştır. Biz çalışmamızda hastaların ilk başvuru anında ve iyileşme dönemlerinde alınan serum örneklerinde ALR düzeyini çalıştık. Ayrıca hastalar ile kontrol grubundan alınan serum örneklerinde ALR düzeylerini karşılaştırdık.

Bizim çalışmamızda, hastaların ilk başvuru anında alınan serum örneklerinde bakılan ALR düzeyi daha yüksek olup kontrol grubundaki sağlıklı bireylerin serum örneklerinde çalışılan ALR düzeyleri ile kıyaslandığında aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p=0,003$; $p<0,05$) (Tablo 7. 1). Bu sonuçtan yola çıkarak hastalarda virüsün neden olduğu hepatosit hasarına yanıt olarak karaciğerde rejenerasyonu sağlayan ALR düzeylerinin yükseldiği sonucuna varılabilir.

Çalışmamızda yaşayan ve ölen bireylerin ilk başvuru anında alınan serum örneklerinde çalışılan ALR değerleri karşılaştırıldığında aradaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$) (Tablo 7. 2). Hastaların ilk başvuru anlarında viral hepatosit hasarına yanıt olarak ALR düzeyleri artmıştır fakat ölen hastalarda ALR düzeyi daha düşüktür. Ancak ölen ve yaşayan hastalar karşılaştırıldığında istatistiksel fark önemsiz bulunmuştur. Bu nedenle, ALR düzeyinin mortaliteyi öngörmeye yetersiz kaldığını söyleyebiliriz. Ancak, bu durum vaka sayısının azlığına bağlı olabilir.

Çalışmamızda hafif, orta ya da ağır grup hastalardan ilk başvuru anında alınan serum örneklerinde bakılan ALR düzeyleri kıyaslandığında, gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$) (Tablo 7. 3). Hastaların tümünde viral hasara yanıt olarak ALR molekülünün düzeyinin artmasına karşın, hafif, orta ya da ağır klinikte olmalarına göre istatistiksel olarak anlamlı fark gösterilememiştir. Yani ALR düzeyi hastalarda artmaktadır ancak hastalığın ağırlık düzeyine göre fark bulunmamaktadır. Sonuç olarak, ALR' nin hastalığın ağırlığını tahmin etmede iyi bir parametre olduğu söylenemez.

Hastaların iyileşme döneminde hesaplanan ciddiyet skorları ile konvelesan faz serum örneklerinde bakılan ALR düzeyleri kıyaslandığında aradaki fark

istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$) (Tablo 7. 4). Hastaların iyileşme dönemlerinde viral hepatosit hasarı azalmaktadır. Hepatosit hasarının azalması nedeniyle iyileşme döneminde ALR düzeylerinin azaldığını söyleyebiliriz. Ancak ALR molekülünün hastalığın ağırlığını tahmin etmede iyi bir parametre olmadığı görülmektedir.

Hastalardan ilk başvuru anında alınan serum örneklerinde bakılan akut faz ALR ile konvelesan faz ALR düzeyleri kıyaslandığında; akut faz ALR düzeyinin konvelesan faz ALR düzeyinden daha yüksek olduğu bulunmuştur ($p=0,009$) (Tablo 7.9). Hastaların ilk başvuru anındaki karaciğer hasarının yüksek olması, rejenerasyonu sağlayan ALR molekülünün hepatositlerde düzeyinin artmasına neden olabilir. Hastaların iyileşme dönemlerinde karaciğer hasarının azalması, akut dönemdeki ALR' ye kıyasla konvelesan faz ALR' nin azalmasını açıklayabilir. Yapılan diğer çalışmalarda ALR molekülü genelde bir uyarıya yanıt olarak yükselmektedir. Bu çalışmalarda portokaval şant ya da kısmi hepatektomi sonrası ALR düzeylerinin yükseldiği görülmektedir (120). Çalışmamızdaki sonuçlardan yola çıkarak Kırım Kongo Kanamalı Ateş Hastalığında akut dönemde ALR' nin hepatosit hasarına yanıt olarak yükseldiğini, hastalığın iyileşme dönemlerinde hepatosit hasarının azalması ile birlikte ALR düzeyinin de azaldığını söyleyebiliriz.

Günümüze kadar birçok çalışmada Kırım Kongo Kanamalı Ateş Hastalığı olanlarda ALT, AST, LDH, lökosit, trombosit, PT, INR, aPTT gibi hastalığın önemli laboratuvar parametreleri irdelenmiştir. Çevik ve arkadaşları (123) yaptıkları çalışmada ölenlerde ortalama trombosit sayısının yaşayanlara oranla anlamlı düzeyde daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada araştırmacılar ölen hastalarda yaşayanlara göre ortalama PT, aPTT, ALT, AST, LDH ve CPK değerlerinin anlamlı olarak yüksek olduğunu, INR düzeyinin ise daha uzun olduğunu bulmuşlardır. Ergönül ve ark. (124) yaptıkları çalışmada AST' nin 700 U/L, ALT' nin ise 900 U/L' nin üzerinde olmasının hastalığın şiddetini gösteren önemli birer kriter olduğunu ifade etmişlerdir. Yine ülkemizde yapılan bir başka çalışmada ise ağır KKKA hastalarında hafiflere göre PT, aPTT, GGT, INR, AST, ALT, LDH değerlerinin anlamlı olarak yüksek olduğu belirtilmiştir (15). Bir başka çalışmada ise KKKA hastalarının hemen hepsinde trombositopeni ve lökopeni görüldüğü, AST, ALT, LDH ve CPK seviyelerinin ise yükseldiği, PT ve aPTT'nin uzadığı, fibrin

yıkımı nedeniyle fibrinojen düzeyinin düştüğü bildirilmiştir (125). Bakır ve arkadaşları 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada KKKA hastalarında mortaliteyi öngörmeyi sağlayan bir şiddet skorlaması tanımlamışlar (53) ve bu şiddet skorlamasında yaş, ALT, AST, LDH, beyaz küre sayısı, trombosit sayısı, PT, INR, aPTT, kanama, organ disfonksiyonu parametrelerini kullanmışlardır (54). Biz de Kırım Kongo Kanmalı Ateş Hastalığının önemli laboratuvar parametreleri ile ALR molekülü arasındaki ilişkiyi araştırdık. Hastaların ilk başvuru anında alınan serum örneklerinden bakılan ALT, AST, LDH, lökosit, trombosit, INR, PT, aPTT ve D-dimer değerleri ile akut faz ALR değerlerini kıyasladık. Çalışmamızda akut faz ALR değerleri ile akut faz AST, ALT, LDH, INR, PTZ, aPTT ve D-dimer değerleri arasında negatif yönlü bir ilişki bulunmuştur. Bu ilişki istatistiksel olarak çok küçük ve anlamsızdır ($p<0,05$). ALR değerleri arttıkça karaciğerde rejenrasyonu arttığını ve buna paralel olarak karaciğer enzimlerinin ve yine karaciğerde üretimi olan koagülasyon faktörlerinin değerlerinin düştüğünü söyleyebiliriz. Ancak, ilişkinin küçük ve anlamsız olması olgu sayısının az olmasına bağlı olabilir.

Çalışmamızda hastaların ilk başvuru anında alınan serum örneklerinden bakılan ALR ile lökosit sayısı arasında aynı yönlü bir ilişki bulunmuştur ($r=0,09$). Ayrıca, başvuru anında alınan serum örneklerinde tespit edilen ALR ile trombosit sayısı arasında da aynı yönlü bir ilişki bulunmuştur ($r=0,24$). Ancak, lökosit ve trombosit için bulunan bu ilişki katsayıları istatistiksel olarak önemsiz ve çok küçüktür (Tablo 7. 5). ALR ile lökosit ve trombosit değerleri arasındaki ilişkinin anlaşılabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Hastalardan iyileşme dönemlerinde alınan serum örneklerinde çalışılan konvelesan faz AST, ALT, LDH, lökosit, trombosit, INR, PTZ, aPTT ve D-dimer değerleri ile konvelesan faz ALR kıyaslandığında, ALT, AST, LDH ve trombosit değerleri ile aynı yönlü bir ilişki bulunmuştur. Ancak bu ilişki istatistiksel olarak önemsizdir (Tablo 7. 6). Konvelesan faz ALR ile konvelesan faz lökosit, INR, PTZ, aPTT ve D-dimer değerleri arasında negatif yönlü bir ilişki mevcuttur. Ancak bu negatif yönlü ilişki istatistiksel olarak çok küçük ve anlamsızdır (Tablo 7. 6).

Hastaların ilk geliş ve iyileşme dönemlerindeki ALR değerlerinin yaş ve cinsiyetle ilişkisi kıyaslandığında, istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (Tablo 7.

7). ALR değerinin yaş ve cinsiyetten bağımsız olarak hastalığın patogenezinde rol oynadığını söyleyebiliriz.

Ölen ve yaşayan hastaların ilk başvuru anında bakılan viral yükleri kıyaslandığında, ölen hastaların viral yük değeri yaşayanlara göre daha yüksek bulunmuş olup; istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$) (Tablo 7. 8).

Yapılan bir çalışmada ağır seyreden ve ölümle sonuçlanan vakalarda viral replikasyonun fazla olduğu ve buna bağlı olarak viral yük düzeylerinin yüksek olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada viral yük ile ölüm arasında korelasyon olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada hastalığı hafif geçirenlerde viral yük seviyeleri düşük, ağır seyredenlerde ise yüksek düzeyde bulunmuştur (67). Aynı çalışmada ölen hastalarda viral yük seviyesi yaşayanlara oranla daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca len hastalardaki antikor yanıtı yaşayan olgulara oranla daha zayıf olarak tespit edilmiştir. Belirtilen alışmada KKKA hastalarında elde edilen bu sonuçlar Ebola virüsü, Lassa virüsü ve Sarı Humma virüsünden elde edilen sonuçlarla korele olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada viral yük seviyesinin $> 1E+08$ 'in üzerinde olmasının ölen ve yaşayan hastalar arasında önemli bir ayırıcı faktör olduğu ileri srlmştir. Towner ve ark (126)'ı da Ebola virüsü ile enfekte hastalarda yaptıkları çalışmada viral yük seviyelerinin ölen hastalarda yaşayanlara oranla daha yüksek olması nedeniyle, viral yük seviyelerinin yüksek olmasının ölüm için belirleyici bir faktör olduğunu ileri sürerek benzer sonuçlara işaret etmektedirler. Yapılan bir başka çalışmada ise çeşitli VKA olgularında viral yük düzeyleri yaşayan olgulara oranla ölen olgularda daha yüksek bulunmuştur. Bu alışmada Lassa ateşi geçiren bir hastada 4. günde viral yük düzeyi $7E+06$ ve 13. günde $4E+09$ kopya/ml olarak tespit edilmiştir. Aynı alışmada Ebola virüs infeksiyonunda hastalarda akut dönemde saptanan viral yük düzeyleri $6.9E+08$ kopya/ml ve konvelesan dönemde $7E+06$ kopya/ml olarak bulunurken; KKKA'te $7.7E+05$ kopya/ml, yellow fever virüsünde $4E+05$ kopya/ml ve deng ateşinde $8E+05$ kopya/ml olarak bulunmuştur (31). Bir diğer çalışmada ise len KKKA olgularında ortalama serum viral yük seviyeleri $28,99E+06$ kopya/ml- $14E+06$ kopya/ml aralığında bulunmuştur (127). Hastanemizde 2006 yılında yapılan bir çalışmada KKKA nedeniyle ölen hastaların hastaneye başvuru gününde serum virüs titrelerinin yaşayanlara göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu ($5.5E+09$ kopya/ml'ye karşı $5.7E+08$ kopya/ml), ardışık ölümlerde ise

ölenlerde ölüm gününe kadar yüksek seyrettiği bildirilmiştir (88). Biz de yaptığımız çalışmada ölen ve yaşayan hastaların ilk başvuru anında bakılan viral yük değerlerini kıyasladık. Çalışmamızda yaşayanlarla ölenlerin viral yük düzeyleri kıyaslandığında, viral yük düzeyleri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 7. 8). Ortalama viral yük seviyeleri ölenlerde $1381600,20\pm146371,6$ kopya/ml, yaşayanlarda ise $420720,71\pm93375,0$ kopya/ml idi. Görüldüğü gibi bizim yaptığımız çalışmada tespit ettiğimiz viral yük seviyeleri ölen gruptaki hastalarda yaşayan gruplardaki hastalara oranla daha yüksek bulunmuştur. Bu durum literatürdeki verilerle karşılaştırıldığında benzer görülmektedir. Buna göre KKKA hastalarında viral yükün yüksek düzeyde olmasının ölümle ilişkili olduğunu söyleyebiliriz. KKKA' lı hastalarda vireminin kontrol altına alınamadığı durumlarda ölüm oranı yüksek olmaktadır diyebiliriz.

Çalışmamızda hastaların ilk başvuru anındaki viral yük düzeyleri ile ALR değerlerini kıyasladığımızda, akut fazdaki viral yük düzeyleri ile ALR değerleri arasında negatif yönlü bir ilişki bulunmuştur. Ancak, bu ilişki istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

KKKA hastalığının patogenezi moleküler düzeyde karmaşık olup, yapılan çok sayıdaki araştırmalara rağmen tam olarak aydınlatılamamıştır (7). Viremi kontrol edilemediği takdirde ölümle sonuçlanan olgular bulunmaktadır. Virüsün replikasyonu ile immün sistem ve vasküler dokunun zarar görmesi sonucu hasar meydana gelmektedir (37). VKA'larda bağışıklık sistemi hastalığın iyileşmesinde önemli rol oynamaktadır. Özellikle ağır olgularda bozulmuş olan bağışık yanıt söz konusudur.

İnsanlardaki immün sistem doğuştan gelen bağışıklık sistemi ve kazanılmış immün sistem olmak üzere iki bileşenden oluşur. Konağın bir patojen mikroorganizma ile karşılaşmasından sonraki kısa bir süre içerisinde doğuştan gelen bağışıklık sistemi aktif hale gelir ve enfeksiyonun ilk saatleri ve günlerinde konak savunmasını koordine eder (13). Ebola ile yapılan bir çalışmada ölen ve yaşayan hastaların serum sitokin seviyeleri kontrol grubundaki olgularla karşılaştırılmış ve IL-2, IL-10, TNF- α ve IFN- γ seviyeleri ölen olgularda belirgin bir şekilde yükselmiş olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar immün aktivasyonun yüksek derecede olduğunu ve Ebola kanamalı ateş hastalarında fatal sonuca katkıda bulunduğunu göstermektedir (120). Daha önce

KKKA hastalarında IL-6, IL-10, IL-12 ve TNF- α gibi sitokinlerin düzeyi araştırılmış ve bu sitokinlerin ölen hastalarda yaşayanlara göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır (87). Enfeksiyona gecikmiş IFN cevabı kontrol edilemeyen viremi ile sonuçlanır. KKKA hastalığında erken IFN cevabı viremiyi azaltır, hepatik hasar derecesini azaltır, tam iyileşme ile hastalığın sona ermesiyle sonuçlanır. Genellikle Tip 1 IFN (IFN- α , IFN- β) cevabı viral kanamalı ateş patogenezinde önemli bir role sahip gibi görünmektedir (83). Ölümcül seyreden hastalarda infekte hücrelerde IFN yapımı yetersiz ya da IFN yanıtı önleyici düzeye ulaşamamaktadır (83). Büyükhan ve ark. (84) KKKA hastalarında yaptıkları bir çalışmada hastalığın akut ve konvelesan dönemlerinde IFN- α ve IFN- β düzeylerini viral yük ile karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada, ölen kişilerdeki viral yük, IFN- α ve IFN- β seviyelerinin yaşayan hastalardan daha yüksek olduğu saptanmıştır. Akut dönemde viral yük, IFN- α ve IFN- β seviyeleri yüksek ise hastalığın daha şiddetli geçirileceği ve ölüm riskinin daha yüksek olacağı öngörülebilmektedir. Bu çalışma sonuçlarından yola çıkıldığında hastalarda yüksek seviyelerdeki IFN olmasına karşın viral replikasyonu baskılamada yetersiz gibi görünmektedir. Kaya ve ark. KKKA hastalığı tanısı almış hastalarda yaptıkları bir çalışmada, ölen ve yaşayan hastalardaki IL-6, IL-10, TNF- α ve IFN- γ seviyelerini karşılaştırmışlardır. Ölen kişilerde IL-6 seviyelerinin öldükleri güne kadar yüksek seviyede olduğunu ve 4. ve 7. günlerde pik yaptığını saptamışlardır. Yaşayanlarda ölenlere göre ardışık günlerde IL-6 seviyelerinin düştüğünü gözlemişlerdir. Aynı çalışmada IL-10 seviyesinin ölen hasta grubunda tedricen artmasına karşın; yaşayan hastalarda ilk güne göre azalma olduğu gözlenmiştir (88). Yine aynı çalışmada ölen hastalarda TNF- α seviyesine ardışık günlerde bakılmış; TNF- α seviyesinin 5. ve 7. günlerde pik yaparak sürekli yüksek seyrettiği, yaşayanlarda ise başlangıç seviyesiyle aynı düzeyde seyrettiği gözlenmiştir. Ölenlerde virüse karşı gelişen IgG antikor titresi yeterli düzeye ulaşmazken, yaşayanlarda ardışık günlerde tedricen yükseldiği saptanmıştır. Aynı çalışmada ölen ve yaşayan hasta grubu arasında başlangıç serum IFN γ seviyeleri açısından fark yokken, ölenlerde 5. günde IFN γ seviyesinin pik yaptığı gözlenmiştir. Bu çalışmada ölen hastaların hiçbirinde antikor yanıtı gelişmemiş olup; bu hastaların büyük olasılıkla immün sistemlerinde defekt olduğunu düşündürmektedir.

Proinflamatuvar sitokinlerin kontrolsüz salınımı mortalitede önemli rol oynamaktadır (88).

IL-7'nin öncelikli fonksiyonu T ve B lenfosit hücelere apoptozisi önleyici etkileri olan bir büyüme faktörüdür. T ve B lenfositlerin, gama delta T hücelerinin büyümesini, çoğalmasını ve aktivasyonunu sağlamaktadır. Ayrıca doğal öldürücü hücelerin büyümesini arttırmaktadır. Sitotoksik T hücelerinin üretimini artırır ve periferik kan monositleri içinde litik aktivasyonu stimüle eder. IL-7 lenfopenide lenfoid rejenerasyon hızlandırabilir. Hücre olgunlaşması ve farklılaşması IL-7 tarafından uyarılarak meydana gelmektedir (89). Hayatta kalma, proliferasyon ve/veya CD4+ ve CD8+ T-hüceleri aktivasyonu, B-hüceleri ve gama delta T hücelerinin gelişmesinde önemli bir rol oynamaktadır (91, 92). Bunların yanında anti-apoptotik Bcl-2, Bcl-xL ve MCL-1 proteinlerini regüle ederek T lenfosit apoptozunu inhibe etmektedir (92, 93, 94). Pro-apoptotik genler olan Bim, Bmf, ve Puma genlerinin ekspresyonunu önlemektedir. IL-7'nin genel olarak immunsupresif etkileri mevcuttur. KKKA hastalığının patogenezinde sitokin yanıtı önemli rol oynamaktadır. Abartılı inflamatuvar yanıt esnasında salınan sitokinlerin sistemik etkileri toksik etkiler ortaya çıkararak organ yetersizliklerine neden olabilmekte ve mortalite gelişme riskini arttırabilmektedir. Salgılanan proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasındaki denge hastalığın seyrini belirlemektedir. Sepsisli hastalarda IL-7 tedavisi ile salgılanan abartılı sitokinlere bağlı gelişen organ yetersizlikleri ve artmış mortalite riskinin azaltılabileceğine ilişkin çalışmalar mevcuttur (94). Bu nedenle biz de çalışmamızda antiinflamatuvar etkileri olduğu bilinen IL-7 düzeylerini çalışarak mortalite, viral yük ve hastalığın ciddiyeti ile ilişkisini araştırdık. Literatürde Kırım Kongo Kanamalı Ateş Hastalığı da dahil olmak üzere hiçbir VKA hastalığında IL-7 değerleri çalışılmamıştır. Çalışmamızda hastaların ilk başvuru anında alınan serum örneklerinde ve kontrol grubundaki bireylerin serum örneklerinde çalışılan IL-7 düzeylerini kıyasladık. Hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz idi ($p=0,441$; $p>0,05$). Hastalardaki ortalama IL-7 değerleri $16,30\pm 7,05$ ng/ml iken, sağlıklı kontrol grubunda $17,43\pm 8,76$ ng/ml idi. Çalışmamızdaki hastalar ile kontrol grubunda IL-7 düzeylerinin arasında fark olmaması antiinflamatuvar etkileri olan bu sitokinin hastalığın patogenezindeki rolünün önemsiz olabileceğini düşündürmektedir.

Yaşayan ve ölen bireylerin ilk başvuru anında alınan serum örneklerinde çalışılan IL-7 değerleri karşılaştırıldığında, aradaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$) (Tablo 7. 2). Ölenlerde ortalama IL-7 değeri $15,89\pm 0,45$ ng/ml iken yaşayan hastalarda ortalama IL-7 değeri $16,37\pm 7,56$ ng/ml idi. Bu sonuçtan yola çıkarak IL-7' nin KKKKA hastalığının patogenezindeki rolünü kestirmek mümkün gözükmemektedir. Mortalite ile IL-7 değerleri arasında bir ilişki saptanmaması da bu sitokinin hastalık patogenezinde etkin bir rolünün olmadığı sonucuna varılabilir. Ancak bu konuda kesin bir yargıya varmak için daha fazla çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Hafif, orta ve ağır grup hastaların ilk başvuru anında bakılan IL-7 düzeyleri kıyaslandığında; gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$) (Tablo 7. 3). Hafif gruptaki hastaların ortalama IL-7 düzeyleri $17,47\pm 11,33$ ng/ml; orta grupta $15,42\pm 2,10$ ng/ml, ağır gruptaki hastalarda ise $15,85\pm 0,61$ ng/ml olarak bulunmuştur. Biz çalışmamızda hastalığın şiddetiyle serum IL-7 düzeyleri arasında herhangi bir ilişki saptayamadık. Çalışmamızda hastaların iyileşme dönemindeki konvelesan faz IL-7 ölçümlerini hafif ve orta-ağır hastalar arasında kıyasladığımızda aradaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$) (Tablo 7. 4). Hafif gruptaki hastaların ortalama konvelesan faz IL-7 değerleri $15,87\pm 7,78$ ng/ml iken; orta-ağır grupta $15,28\pm 2,59$ ng/ml olarak bulunmuştur. Bulgularımızdan yola çıkarak hastalığın başlangıç ve iyileşme dönemlerinin her ikisinde de hafif, orta ve ağır hastalar arasında IL-7 değerlerinin benzer olduğunu; hastalığın şiddetini öngörmede iyi bir parametre olamayacağını söyleyebiliriz.

Hastaların ilk geliş ve iyileşme dönemlerindeki akut faz ve konvelesan faz IL-7 değerlerinin yaş ve cinsiyetle ilişkisini araştırdık. Akut faz ve konvelesan faz IL-7 değerleri yaş ve cinsiyet yönünden kıyaslandığında; aradaki farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (Tablo 7.7).

Hastalardan ilk başvuru anında ve konvelesan faz IL-7 düzeyleri kıyaslandığında; akut faz IL-7 düzeyi ile konvelesan faz IL-7 düzeyleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (Tablo 7.10). Hastalığın ilk başvuru anında ve konvelesan fazda anlamlı farklılık saptanmaması da IL-7' nin hastalığın patogenezinde belirgin bir rolünün olmadığını desteklemektedir.

Hastaların ilk başvuru anındaki IL-7 düzeyleri ile bazı laboratuvar parametreleri kıyaslandığında; AST, ALT, LDH, aPTT ve D-dimer değerleri arasında negatif yönlü bir ilişki bulunmuştur. Ancak bu ilişki istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. IL-7 düzeyleri ile lökosit, trombosit ve PTZ düzeyleri arasında aynı yönlü bir ilişki bulunmuştur. Ancak bu ilişki istatistiksel olarak önemsizdir. Hastaların iyileşme dönemlerinde alınan konvelesan faz IL-7 ile konvelesan faz laboratuvar parametrelerini kıyasladığımızda; ALT, AST, LDH, INR, PTZ, aPTT, arasında aynı yönlü; lökosit, trombosit, D-dimer değerleri arasında negatif yönlü bir ilişki bulunmuştur. Ancak bu ilişki istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. IL-7 düzeyleri ile hastalığın önemli laboratuvar parametreleri arasında herhangi bir anlamlı ilişki saptayamadık.

Hastaların ilk başvuru anında bakılan viral yükleri ile IL-7 düzeylerini kıyasladığımızda; negatif yönlü bir ilişki bulunmuştur ($r=-0,03$). Ancak bu ilişki istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Viral yük ile IL-7 düzeyleri arasında anlamlı bir ilişkinin olmaması da bu sitokinin hastalığın patogeneğinde rolünün olmadığını desteklemektedir.

9. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. KKKA hastaları ile sağlıklı kontrol grubundaki bireylerin ALR düzeyleri karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

2. KKKA hastalarının ilk başvuru anında ve konvelesan dönemde çalışılan ALR düzeyleri kıyaslandığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Hastalığın şiddeti ile ALR düzeyleri arasında aynı yönlü bir ilişki mevcuttur ancak istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Bu durum hasta sayısının yetersiz olmasına bağlı olabilir.

3. Hastaların ilk başvuru anındaki viral yükleri ile ALR düzeyleri kıyaslandığında; viral yük ile ALR düzeyleri arasında negatif yönlü bir ilişki bulunmuştur ancak istatistiksel olarak önemsizdir ($r = -0,06$). Viral yük ile ALR arasındaki ilişkinin tam olarak anlaşılabilmesi için daha fazla çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

4. KKKA hastaları ile kontrol grubunun IL-7 düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. KKKA hastalarının ilk başvuru anında ve konvelesan dönemde çalışılan IL-7 düzeyleri kıyaslandığında aradaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$). Hastalığın şiddeti ile IL-7 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p > 0,05$). IL-7' nin KKKA hastalığının patogeneğinde herhangi bir rolü saptanamamıştır.

5. Yaşayan ve ölen bireylerin ilk başvuru anında çalışılan ALR ve IL-7 düzeyleri karşılaştırıldığında aradaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$). ALR akut dönemde yükselmesine rağmen mortaliteyi öngörmede yetersiz kalmaktadır.

6. Hastaların ilk başvuru anındaki viral yükleri ile IL-7 düzeyleri kıyaslandığında; viral yük ile IL-7 arasında negatif yönlü bir ilişki bulunmuştur ($r = -0,03$) ancak istatistiksel olarak önemsizdir.

7. Hastalardan ilk başvuru anında alınan serum örneklerinde çalışılan ALR düzeyleri ile AST, ALT, LDH, INR, PTZ, aPTT ve D-dimer değerleri arasında negatif yönlü bir ilişki bulunmuştur. Bu ilişki istatistiksel olarak anlamsız ve değeri

düşüktür. Hastalardan ilk başvuru anında alınan serum örneklerinden bakılan ALR düzeyi ile lökosit sayısı arasında aynı yönlü bir ilişki bulunmuştur ($r=0,09$). İlk başvuru anındaki ALR düzeyleri ile trombosit sayısı arasında aynı yönlü bir ilişki bulunmuştur ($r=0,24$). Lökosit ve trombosit sayıları için bulunan bu ilişki katsayıları istatistiksel olarak önemsiz ve çok küçüktür.

8. Hastaların ilk başvuru anında alınan serum örneklerinde çalışılan IL-7 ile AST, ALT, LDH, aPTT ve D-dimer arasında negatif yönlü bir ilişki bulunmuştur. Bu ilişki istatistiksel olarak çok küçük ve anlamsızdır. IL-7 düzeyleri ile lökosit, trombosit, INR ve aPTT arasında aynı yönlü ilişki olup bulunan ilişki katsayıları istatistiksel olarak önemsiz ve çok küçüktür.

9. Ölen hastalar ile yaşayan hastaların viral yük düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).

10. Hastaların ilk geliş ve iyileşme dönemlerinde çalışılan ALR ve IL-7 düzeylerinin yaş ve cinsiyet ile ilişkisi kıyaslandığında; istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

11. Başvuru anında alınan serum örneklerinde bakılan ALR düzeyi ile mortalite arasındaki ilişkiyi araştırmak için ROC analizi yapıldığında eğri altında kalan alanın büyüklüğü 0,400 olarak tespit edilmiş ($p=0.314$, güven aralığı 0.25-0.55) ve istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Başvuru anında alınan serum örneklerinde bakılan IL-7 düzeyi ile mortalite arasındaki ilişkiyi araştırmak için ROC analizi yapıldığında eğri altında kalan alanın büyüklüğü 0,668 olarak tespit edilmiş ($p=0.107$, güven aralığı 0,517-0,819) ve istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Çalışmamızda KKKA hastalarında ALR ve IL-7 düzeylerini, hastalığın şiddeti, viral yük ve mortaliteyle ilişkisini araştırmayı amaçladık. ALR molekülü hepatosit hasarına yanıt olarak artmaktadır ancak hastalığın patogenezindeki kesin rolünü kestirmek şuan için güçtür. Çalışmamızda IL-7'nin KKKA hastalığının patogenezinde herhangi bir rolü saptanmamıştır. KKKA hastalığının patogenezinin aydınlatılması için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

10. KAYNAKLAR

- 1- Korkmaz M, Yıldırım Y, Özçelik H, Fadiloğlu Ç. Güncel Bir Sorun: Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi. *F.Ü Sag Bil Vet Derg*; 26 (1): 053-060, 2012.
- 2- Ergonul O, Celikbas A, Dokuzoguz B, Eren S, Baykam N, Esener H. Characteristics of patients with Crimean-Congo haemorrhagic fever in a recent outbreak in Turkey and impact of oral ribavirin therapy. *Clin Infect Dis*; 39: 284-287, 2004.
- 3- Watts DM, Ussery MA, Nash D, Peters CJ. Inhibition of Crimean-Congo hemorrhagic fever viral infectivity yields in vitro ribavirin. *Am J Trop Med Hyg*; 41(5): 581-5, 1989.
- 4- Tignor GH ve Hanham CA. Ribavirin efficacy in an in vivo model of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHF) infection. *Antiviral Res*; 22(4): 309-25, 1993.
- 5- Yu HY, Xiang DR, Huang HJ, Li J, Sheng JF. Expression level of augmenter of liver regeneration in patients with hepatic failure and hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*; 9(5): 492-498, 2010.
- 6- Burt FJ, Swanepoel R, Shieh WJ, Smith JF, Leman PA, Greer PW ve ark. Immunohistochemical and in situ localization of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) virus in human tissues and implications for CCHF pathogenesis. *Arch Pathol Lab Med*; 121(8): 839-46, 1997.
- 7- Geisbert Thomas W ve Jahrling Peter B. Exotic emerging viral diseases: progress and challenges. *Nat Med*; 10(12): 110-121, 2004.
- 8- Unsinger J. ve ark. IL-7 promotes T cell viability, trafficking, and functionality and improves survival in sepsis. *J Immunol*; 184:3768, 2010.
- 9- Ergonul O. Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Lancet Infect Dis*; 6(4): 203-14, 2006.
- 10- Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Res*; 64(3): 145-60, 2004.
- 11- Walker RA, Bouttaour A, Camicas JL, Estrada- Pena A, Horak IG, Latif A ve ark. Tick of Domestic Animals in Africa. A Guide to Identification of Species, The University of Edinburgh, UK: Bioscience Reports, 114, 2003.

12-Elaldi N. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi. T.C.Sağlık Bakanlığı Türk Halk Sağlığı Kurumu, 2015 (www.istanbulhalksagligi.gov.tr).

13- Engin A, Arslan S, Kızıldağ S, Öztürk H, Elaldi N, Dökmetas I, Bakır M. Toll-like receptor 8 and 9 polymorphisms in Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Microbes and Infection*; 12: 1071-1078, 2010.

14- Elaldı N. Kırım-Kongo hemorajik ateşi epidemiyolojisi. *Klimik Dergisi*; 17 (3): 151-56, 2004.

15- Bodur H. Kırım-Kongo kanamalı ateşi ve DAS yönetimi. 5.Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongre Kitabı; 509-520, 2007.

16- Simpson DIH. Viral haemorrhagic fevers of man. *Bull Wld Hlth Org*; 56(6): 819-32, 1978.

17- Le Duc JW. Epidemiology of hemorrhagic fever viruses. *Rev Infect Dis*; 11(4): 730-5, 1989.

18- Vorou RM. Crimean-Congo hemorrhagic fever in southeastern Europe. *Int J Infect Dis*; 13(6): 659-62, 2009.

19- Fisher-Hoch SP, Khan JA, Rehman S, Mirza S, Khurshid M, McCormick JB. Crimean Congo-haemorrhagic fever treated with oral ribavirin. *Lancet*; 346: 472-475, 1995.

20- Oldfield EC 3rd, Wallace MR, Hyams KC, Yousif AA, Lewis DE, Bourgeois AL. Endemic infectious diseases of the Middle East. *Rev Infect Dis*; 13(Suppl 3): 199-217, 1991.

21- Bakır M, Uğurlu M, Dokuzoğuz B, Bodur H, Taşyaran MT, Vahaboğlu H. ve the Turkish CCHF Study Group. Crimean-Congo haemorrhagic fever outbreak in middle Anatolia: A multicentre study of clinical features and outcome measures. *J Med Microbiol*; 54: 1-5, 2005.

22- Watts DM, Ksiazek TG, Linthicum KJ, Hoogstraal H. Crimean-Congo hemorrhagic fever. In Monath TP, ed. *The arboviruses: Epidemiology and Ecology*, 2: 177-260, 1988.

23- Andersson I. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virüs: İnterferon-induced antiviral mechanisms and immune evasion strategies. From Department of Microbiology, Tumor and Cell Biology, Karolinska Institutet and the Swedish

Institute for Infections Disease Control, Stockholm, Sweden, 2008 (<https://openarchive.ki.se>.)

24- Casals J. Antigenic similarity between the virus causing Crimean hemorrhagic fever and Congo virus. *Proc Soc Exp Biol Med*, 131(1): 233-6, 1969.

25- Mardani M, Jahromi MK, Naieni KH, Zeinali M. The efficacy of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Iran. *Clin Infect Dis*, 36 (12): 1613-8, 2003.

26- Capua I. Crimean-Congo haemorrhagic fever in ostriches: A public health risk for countries of the European Union? *Avian Pathology*, 27: 117-20, 1998.

27- Vatansever Z. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi epidemiyolojisinde çevresel, vektörel, iklimsel değişikliklerin rolü. 3. Ulusal Viroloji Kongre Kitabı, Bursa, 203-6, 2007.

28- Hoogstraal H. The epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. *J Med Entomol*; 15(4): 307- 417, 1979.

29- Ergonul O ve Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever: A Global Perspective; 59-74, 2007.

30- Kırdar S, Ertuğrul M.B. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*; 10(2): 45 – 52, 2009.

31- Drosten C, Götting S, Schilling S, Asper M, Panning M, Schmitz H ve ark. Rapid detection and quantification of RNA of Ebola and Marburg viruses, Lassa virus, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Rift Valley fever virus, Dengue virus, and Yellow fever virus by real-time reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol*; 40(7): 2323-30, 2002.

32- Özkuyumcu C, Viral zoonozlar. In: Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S, (eds). *Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji*. Güneş Kitabevi, Ankara; 293, 2004.

33- El-Azazy OM, Scrimgeour EM. Crimean-Congo Haemorrhagic Fever virus infection in the western province of Saudi Arabia. *Trans R Soc Trop Med Hy*; 91: 275-8, 1997.

34- Stickland H. Crimean-Congo hemorrhagic fever. In: *Tropical medicine and emerging infectious diseases*. J. McCormick and S. Fischer-Hoch (eds). W.B. Saunders Philadelphia; 284-287, 2000.

- 35- Papa A, Bino S, Velo E, Harxhi A, Kota M, Antoniadis A. Cytokine levels in Crimean-Congo haemorrhagic fever. *J Clin Virol*; 36 (4): 272-6, 2006.
- 36- Mayers D. Tickborne hemorrhagic fever. In: *Tickborn Infectious Diseases, Diagnosis and Management*. B. Cunha (ed). Marcel Dekker Inc; 215-31, 2000.
- 37- Schnitler HJ ve Feldman H. Viral haemorrhagic fever- a vascular disease? *Thromb Haemost*; 89(6): 967-972, 2003.
- 38- Chen JP ve Cosgriff TM. Haemorrhagic fever virus-induced changes in hemostasis and vascular biology. *Blood Coagul Fibrinolysis*; 11(5): 461-483, 2000.
- 39- Ksiazek TG, Rollin PE, Williams AJ, Bressler DS, Martin ML, Swanepoel R ve ark. Clinical virology of Ebola haemorrhagic fever (EHF): Virus, virus-antigen and IgM and IgG antibody findings among EHF patients in Kikwit, Democratic Republic of the Congo. *J Infect Dis*; 179 (Suppl 1): 177-187, 1999.
- 40- Sanchez A, Lukwiya M, Bausch D, Mahanty S, Sanchez AJ, Wagoner KD ve ark. Analysis of human peripheral blood samples from fatal and nonfatal cases of Ebola (Sudan) haemorrhagic fever: Cellular responses, viral load, and nitric oxide levels. *J Virol*; 78: 10370-7, 2004.
- 41- Shepherd AJ, Swanepoel R, Leman PA. Antibody response in Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Rev Infect Dis*; (Suppl 4): 801-6, 1989.
- 42- Ardalan MR, Tubbs RS, Chinikar S, Shoja MM. Crimean-Congo haemorrhagic fever presenting as thrombotic microangiopathy and acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant*; 21: 2304-7, 2006.
- 43- Peters CJ ve Zaki SR. Role of the endothelium in viral haemorrhagic fevers. *Crit Care Med*; 30: 268-73, 2002.
- 44- Burt FJ, Swanepoel R, Shieh WJ, Smith JF, Leman PA, Greer PW ve ark. Immunohistochemical and in situ localization of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) virus in human tissues and implications for CCHF pathogenesis. *Arch Pathol Lab Med*, 121(8): 839-46, 1997.
- 45- Geisbert TW ve Jahrling PB. Exotic emerging viral diseases: progress and challenges. *Nat Med*; 10: 110-21, 2004.

46- Joubert JR, King JB, Rossouw DJ, Cooper R. A nosocomial outbreak of Crimean-Congo haemorrhagic fever at Tygerberg Hospital. Part III. Clinical pathology and pathogenesis. *S Afr Med J*; 68 (10): 722-8, 1985.

47- Karti SS, Odabasi Z, Korten V, Yilmaz M, Sonmez M, Caylan R ve ark. Crimean- Congo hemorrhagic fever in Turkey. *Emerg Infect Dis*; 10(8): 1379-84, 2004.

48- Geisbert TW, Hensley LE, Larsen T, Young HA, Reed DS, Geisbert JB ve ark. Pathogenesis of Ebola haemorrhagic fever in cynomolgus macgus: Evidence that dendritic cells are early and sustained target of infection. *Am J Pathol*; 163: 2347-70, 2003.

49- Swanepoel R, Gill DE, Shepherd AJ, Leman PA, Mynhardt JH, Harvey S ve ark. The clinical pathology of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Rev Infect Dis*; 11(4): 794-800, 1989.

50- Swanepoel R ve Coetzer JA. Rift Valley fever. In: Royal Society (Great Britain), (ed). *Infectious Diseases of Livestock with Special Reference to Southern Africa*, Oxford University Press, 1, New York, 1994.

51- Peters CJ, Kuehne RW, Mercado RR, Le Bow RH, Spertzel RO, Webb PA. Hemorrhagic fever in Cochabamba. *Am J Epidemiol*; 99: 425-433, 1974.

52- Bodur H. Kırım-Kongo kanamalı atesi. *İ.Ü Cerrahpasa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Sempozyum Kitapçığı*; 55: 267-277, 2007.

53- Bakır M, Engin A, Gozel M.G, Elaldi N, Kılıçkap S, Çınar Z. A new perspective to determine the severity of cases with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Vector Borne Dis*; 49: 105–110, 2012.

54- Bakır M, Gozel M.G, Köksal İ, Aşık Z, Günel Ö, Yılmaz G ve ark. Validation of a severity grading score (SGS) system for predicting the course of disease and mortality in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 34(2): 325-30, 2014.

55- Shepherd AJ, Swanepoel R, Leman PA, Shepherd SP. Comparison of methods for isolation and titration of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Clin Microbiol*; 24(4): 654-6, 1986.

- 56- Hephherd A, Swanepoel R, Gill D. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay and reversed passive hemagglutination for detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus antigen. *J Clin Microbiol*; 26(2): 347-53, 1988.
- 57- Burt FJ, Leman PA, Smith JF, Swanepoel R. The use of a reverse transcription polymerase chain reaction for the detection of viral nucleic acid in the diagnosis of Crimean-Congo haemorrhagic fever. *J Virol Methods*; 70(2): 129-37, 1998.
- 58- Schwarz TF, Nitschko H, Jager G, Nsanze H, Longson M, Pugh RN ve ark. Polymerase chain reaction for diagnosis and identification of distinct variants of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in the United Arab Emirates. *Am J Trop Med Hyg*; 55(2): 190-6, 1996.
- 59- Saluzzo J ve Le Guenno B. Rapid diagnosis of human Crimean-Congo hemorrhagic fever and detection of the virus in naturally infected ticks. *J Clin Microbiol*; 25(5): 922-4, 1987.
- 60- Burt FJ, Leman PA, Abbott JC, Swanepoel R. Serodiagnosis of Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Epidemiol Infect*; 113(3): 551-62, 1994.
- 61- Shepherd A, Swanepoel R and Leman P. Antibody response in Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Rev Infect Dis*; 11(4): 801-6, 1989.
- 62- CDC. Management of patients with suspected viral haemorrhagic fever. *Morb Mortal Wkly Rep*; 37 (Suppl 3): 1-16, 1988.
- 63- Tasyaran MA ve Özkurt Z. Kırım-Kongo hemorajik atesi: Tedavi ve korunma. *Klimik Dergisi*; 17: 157-60, 2004.
- 64- Borio L, Inglesby T, Peters CJ, Schmaljohn AL, Hughes JM, Jahrling PB ve ark. Hemorrhagic fever viruses as biological weapons: medical and public health management. *JAMA*; 287(18): 2391-405, 2002.
- 65- Oestereich L, Rieger T, Neumann M, Bernreuther C, Lehmann M, Krasemann S ve ark. Evaluation of antiviral efficacy of ribavirin, arbidol, and T-705 (favipiravir) in a mouse model for Crimean-Congo hemorrhagic fever. *PLoS Negl Trop Dis*; 8(5): 2804, 2014.

66- Duh D, Saksida A, Petrovec M, Ahmeti S, Dedushaj I ve ark. Viral load as predictör of Crimean-Congo Haemorrhagic Fever outcome. *Emerg Infect Dis*; 13(11): 1769-72, 2007.

67- Wolfel R, Pawesta JT, Petersen N, Gobbellaar AA, Leman PA, Hewson R ve ark. Virus detection and monitoring of viral load in Crimean-Congo Haemorrhagic Fever virus patients. *Emerg Infect Dis*; 13(7): 1097-100, 2007.

68- Wassilenko SM, Vassilev TL, Bozadjiev LG, Bineva IL, Kazarov GZ. Specific intravenous immunoglobulin for Crimean-Congo Haemorrhagic Fever. *Lancet*; 335(8692): 791-2, 1990.

69- Ergonul O. Treatment of Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Antiviral Res*; 78(1): 125-31, 2008.

70- Aydın K, Köksal I, Aksoy F, Yılmaz G, Sözen E, İskender S. The patients with Crimean- Congo haemorrhagic fever treated with intravenous immunoglobulin. 47th. Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 1908, 2007.

71- T.C. Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü. Kırım Kongo kanamalı ateşi. 1. Baskı: Ankara, 2005.

72- Maryam Keshtkar-Jahromi ve ark. Crimean-Congo haemorrhagic fever: current and future prospects of vaccines and therapies. *Antiviral Res*; 90(2): 85-92, 2011.

73- Finberg R.W, Wang J.P, Kut Jones E.A, Toll like receptors and viruses, *Rev Med Virol*; 17(1): 35-43, 2007.

74- Pasare C ve Medzhitov R. Toll-like receptors: linking innate and adaptive Immunity. *Microbes Infect*; 6(15): 1382-7,2004.

75- Cytokines. In: Parslaw TG, Stites OP, Terr AI, Imoden JB(Eds.). *Lange Medical Immunology*. 10th Ed. New York: Lange Medical Books/ McGraw Hill; 148-167.

76- Kelso A. Cytokines: Principles and prospects. *Immunol Cell Biol*;76(4): 300-7,1998.

77- Mandell, Douglas, Bennett. *Principles and Practise of Infectious Diseases*. Adaptive Immunity: Antibodies and Immunodeficiencies, 33-41,1988.

78- Aydın F, Oguz R,Çarin MN. Sitokinler. *Sendrom*, 95-101, 1997.

79- Kılıçturgay K. Sitokin Kavramına Analitik Yaklaşım. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji*, 329-335, 2000.

80- Bilgehan H. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. Barış Yayınları; İzmir, 81-92, 1999.

81- Fresno M, Kopf M, Rivas L. Cytokines and infectious diseases. *Immunol Today*; 18(2): 56-8, 1997.

82- Luger TA, Böhm M. Cytokines with immunosuppressive capacities. In: Burg G, Dummer RG (eds). *Strategies for Immunointerventions in Dermatology*. Berlin: Springer Verlag, 101-17, 1997.

83- Andersson I, Karlberg H, Mousavi-Jazi, M, Martinez-Sobrido L, Weber F, Mirazimi A. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus delays activation of the innate immune response. *J Med Virol*; 80:1397-1404, 2008.

84- Büyükhan İ, Bakır M, Engin A, Sümer Z, Gözel MG, Elaldı N, Dökmetaş İ. Kırım-Kongo Kanamalı Ateş hastalarında tip I (α , β) interferon ve viral yük düzeyleri ile klinik seyir arasındaki ilişkinin araştırılması. *Klimik Kongre Kitabçığı*, Sivas 2013 (www.klimik.org.tr).

85- H. Wagner, Endogenous TLR ligands and autoimmunity, *Adv Immunol*; 91: 159-73, 2006.

86- Villinger F, Rollin P.E, Brar S.S, Chikkala N.F, Winter J, Sundstrom J.B. ve ark. Markedly elevated levels of IFN- γ , IFN- α , IL-2, IL-10 and TNF- α associated with fatal Ebola virus infection. *J Infect Dis*; 179 (Supp 11):188-91, 1999.

87- Ergonul O, Tuncbilek S, Baykam N, Celikbas A, Dokuzoguz B. Evaluation of serum levels of interleukin (IL)-6, IL-10, and tumor necrosis factor alpha in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Infect Dis*; 193(7): 941-4, 2006.

88- Kaya S, Elaldi N, Kubar A, Gursoy N, Yilmaz M, Karakus G ve ark. Sequential determination of serum viral titers, virus-specific IgG antibodies, and TNF- α , IL-6, IL-10, and IFN- γ levels in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *BMC Infect Dis*; 14: 416, 2014

89- Al-Rawi M.A.A, Mansel R.E. ve Jiang W.G. Interleukin-7 (IL-7) and IL-7 receptor (IL-7R) signalling complex in human solid tumours. *Histol Histopathol*; 18: 911-923, 2003.

90- Unsinger J. et al. IL-7 promotes T cell viability, trafficking, and functionality and improves survival in sepsis. *J Immunol*; 184:3768, 2010.

91- Geiselhart, L.A. ve ark. IL-7 administration alters the CD4:CD8 ratio, increases T cell numbers, and increases T cell function in the absence of activation. *J Immunol*; 166:3019, 2001.

92- Ma A. ve ark. Diverse functions of IL-2, IL-15, and IL-7 in lymphoid homeostasis. *Annu Rev Immunol*; 24: 657-79, 2006.

93- Chetoui N, Boisvert M, Gendron S, Aoudjit F. Interleukin-7 promotes the survival of human CD4+ effector/memory T cells by up-regulating Bcl-2 proteins and activating the JAK/STAT signalling pathway. *Immunol*; 130: 418–426, 2010.

94- Richard S Hotchkiss, Guillaume Monneret, Didier Payen. Immunosuppression in sepsis: a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach. *Lancet Infect Dis*; 13: 260–68, 2013.

95- Gandhi C. Augmenter of liver regeneration. *Fibrogenesis & Tissue Repair*; 5:10, 2012.

96- Hofhaus G, Lee JE, Tews I, Rosenberg B, Lisowsky T. The N-terminal cysteine pair of yeast sulfhydryl oxidase Erv1p is essential for in vivo activity and interacts with the primary redox centre. *Eur J Biochem*. 270:1528–1535, 2003.

97- Lu C, Li Y, Zhao Y, Xing G, Tang F, Wang Q ve ark. Intracrine hepatopoietin potentiates AP-1 activity through JAB1 independent of MAPK pathway. *FASEB J*, 16(1):90–92, 2002.

98- Lee J, Hofhaus G, Lisowsky T. Erv1p from *Saccharomyces cerevisiae* is a FAD-linked sulfhydryl oxidase. *FEBS Lett*, 477(1-2):62–66, 2000.

99- Lange H, Lisowsky T, Gerber J, Mühlhoff U, Kispal G, Lill R. An essential function of the mitochondrial sulfhydryl oxidase Erv1p/ALR in the maturation of cytosolic Fe/S proteins. *EMBO Rep*; 2:715–720, 2001.

100- Dayoub R, Thasler WE, Bosserhoff AK, Singer T, Jauch KW, Schlitt HJ, Weiss TS. Regulation of polyamine synthesis in human hepatocytes by hepatotrophic factor augmenter of liver regeneration. *Biochem Biophys Res Commun*. 345:181–187, 2006.

101- Ilowski M, Putz C, Weiss TS, Brand S, Jauch KW, Hengstler JG, Thasler WE. Augmenter of liver regeneration causes different kinetics of ERK1/2 and Akt/PKB phosphorylation than EGF and induces hepatocyte proliferation in an EGF receptor independent and liver specific manner. *Biochem Biophys Res Commun*, 394:915–920, 2010.

102- Thasler WE, Dayoub R, Mühlbauer M, Hellerbrand C, Singer T, Gräbe A, Jauch KW, Schlitt HJ, Weiss TS. Repression of cytochrome P450 activity in human hepatocytes in vitro by a novel hepatotrophic factor, augmenter of liver regeneration. *J Pharmacol Exp Ther*; 316:822–829, 2006.

103- Levitchi M, Fradette C, Bleau AM, Michaud D, Kourylko O, Arcand M, Du SP. Signal transduction pathways implicated in the decrease in CYP1A1, 1A2 and 3A6 activity produced by serum from rabbits and humans with an inflammatory reaction. *Biochem Pharmacol*; 68:573–582, 2004.

104- Tanigawa K, Sakaida I, Masuhara M, Hagiya M, Okita K. Augmenter of liver regeneration (ALR) may promote liver regeneration by reducing natural killer (NK) cell activity in human liver diseases. *J Gastroenterol*; 35:112–119, 2000.

105- Ilowski M, Kleespies A, de Toni EN, Donabauer B, Jauch KW, Hengstler JG, Thasler WE. Augmenter of liver regeneration (ALR) protects human hepatocytes against apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*; 404:148–152, 2011.

106- Connolly-Andersen, A.M., Douagi, I., Kraus, A.A., Mirazimi A. Crimean Congo hemorrhagic fever virus infects human monocyte-derived dendritic cells. *Viol J*; 390 (2): 157–162, 2009.

107- Connolly-Andersen AM, Moll G, Andersson C, Akerström S, Karlberg H, Douagi I ve ark. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus activates endothelial cells. *J Virol*; 85(15): 7766-74, 2011.

108- Peyrefitte C.N, Perret M, Garcia S, Rodrigues R, Bagnaud A., Lacote S. ve ark. Differential activation profiles of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus and Dugbe virus-infected antigen-presenting cells. *J Gen Virol*; 91 (Pt 1): 189–198, 2010.

109- Bente D.A, Alimonti J.B, Shieh W.J, Camus G, Stroher U, Zaki S ve ark. Pathogenesis and immune response of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in a STAT-1 knockout mouse model. *J Virol*; 84 (21): 11089–100, 2010.

110- Bereczky S. Lindegren G, Karlberg H, Akerstrom S, Klingstrom J, Mirazimi A. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infection is lethal for adult type I interferon receptor-knockout mice. *J Gen Virol*; 91 (Pt 6): 1473–7, 2010.

111- Bowick G.C, Airo A.M, Bente D.A. Expression of interferon-induced antiviral genes is delayed in a STAT1 knockout mouse model of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Viol J*; 9 (1): 122, 2012.

112- Andersson I, Karlberg H, Mousavi-Jazi M, Martinez-Sobrido L, Weber F, Mirazimi A. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus delays activation of the innate immune response. *J Med Virol*; 80 (8): 1397–1404, 2008.

113-Andersson I, Lundkvist A, Haller O, Mirazimi A. Type I interferon inhibits Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in human target cells. *J Med Virol*; 78(2): 216–222, 2006.

114- Fraasier C, Rodriguesc R, Hai V.V, Belghazie M, Bourdona S, Paranhos-Baccalac G ve ark. Hepatocyte pathway alterations in response to in vitro

Crimean Congo hemorrhagic fever virus infection. *Virus Research*; 179, 187– 203, 2014.

115- Rodrigues R, Paranhos-Baccala G, Vernet G, Peyrefitte C.N. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus-Infected Hepatocytes Induce ER-Stress and Apoptosis Crosstalk. *PLoS ONE*; 7(1): 29712, 2012.

116-. Galluzzi L, Brenner C, Morselli E, Touat Z, Kroemer G. Viral Control of Mitochondrial Apoptosis. *PLoS Pathog*; 4, 2008.

117- Lin C-F, Lei H-Y, Shiau A-L, Liu H-S, Yeh T-M, et al. Endothelial Cell Apoptosis Induced by Antibodies Against Dengue Virus Nonstructural Protein 1 Via Production of Nitric Oxide. *J Immunol*; 169: 657–664, 2002.

118- Gadaleta P, Perfetti X, Mersich S, Coulombie F. Early activation of the mitochondrial apoptotic pathway in Vesicular Stomatitis Virus-infected cells. *Virus Research*; 109: 65–69, 2005.

119- Castedo M, Perfettini J-L, Andreau K, Roumier T, Piacentini M, et al. Mitochondrial apoptosis induced by the HIV-1 envelope. *Ann N Y Acad Sci*, 1010: 19–28, 2003.

120-Gandhi CR, et al. A fresh look at augments of liver regeneration (ALR) in rats. *Hepatology*, 29:1435–45,1999.

121- Shindo Y1, Unsinger J, Burnham CA, Green JM, Hotchkiss RS. Interleukin-7 and anti-programmed cell death 1 antibody have differing effects to reverse sepsis-induced immunosuppression. *Shock Society*, 43(4):334-43, 2015.

122- Khan AS, Maupin GO, Rollin PE, Noor AM, Shurie HH, Shalabi AG ve ark. An outbreak of Crimean-Congo hemorrhagic fever in the United Arab Emirates, 1994- 1995. *Am J Trop Med Hyg*, 57, 519-25, 1997.

123- Cevik MA, Erbay A, Bodur H, Gulderen E, Bastug A, Kubar A et al. Clinical and laboratory features of Crimean-Congo hemorrhagic fever: predictors of fatality. *Int J Infect Dis*; 12: 374–9, 2008.

124- Ergönül Ö, A. Çelikbaş, N. Baykam, S. Eren and B. Dokuzoğuz. Analysis of risk-factors among patients with Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection: severity criteria revisited. *Clin Microbiol Infect*; 12: 551–554, 2006.

125- Ergönül Ö. Türkiye'de Yeni Bir Enfeksiyon: Kırım Kongo Kanamalı Ateşi. *Sted*, cilt 15, sayı 6, 2006.

126- Saksida A, Duh D, Wraber B, Dedushaj I, Ahmeti S ve Avšič -Zupanc T. Interacting Roles of Immune Mechanisms and Viral Load in the Pathogenesis of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. *Clin Vaccine Immunol*, 17(7), 1086–1093, 2010.

127- Papa A, Drosten C, Bino S, Papadimitriou E, Panning M, Velo E ve ark. Viral Load and Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. *Emerg Infect Dis*; 13(5): 805-6, 2007.



ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Elazığ'ın Sivrice ilçesinde doğdu. İlk-orta öğrenimini ve lise eğitimini Sivrice'de tamamladı. 2000-2006 yılları arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde okudu. 2006-2009 yılları arasında Şanlıurfa'da pratisyen hekimlik yaptıktan sonra 2009 yılında kazanmış olduğu Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilimdalı'nda uzmanlık eğitimini tamamladı.







